

GUÍA PARA EL USO DE SEDIMENTOS EN LA RECONSTRUCCIÓN HISTÓRICA DE LA CONTAMINACIÓN EN ZONAS COSTERAS

ANEXOS

Contenido

ANEXO I	1
PLANILLAS DE RECOLECCIÓN DE MUESTRAS DE SEDIMENTO	1
I.1. Planilla de recolección de sedimentos superficiales.....	2
I.2. Planilla de recolección de cores de sedimentos.....	3
I.3. Planilla de caracterización de los cores	4
ANEXO II	5
INFORMES ANALÍTICOS.....	5
II.1. Preparación de informes de resultados analíticos	6
II.2. Ejemplo de informe analítico	9
ANEXO III	14
MÉTODOS DE ANÁLISIS	14
III.1. Contenido de humedad en el sedimento	15
III.2. Pérdidas por ignición	16
III.3. Preparación de muestras para análisis de actividad de ²¹⁰ Po en sedimentos	18
III.4. Actividad de radionúclidos por espectrometría de rayos gamma	20
III.5. Preparación de muestras para análisis de tamaño de grano	31
III.6. Composición elemental por espectrometría de fluorescencia de rayos X (XRF)..	32
III.7. Determinación de carbono total, nitrógeno total, carbono inorgánico total y carbono orgánico total.....	33
III.8. Concentración de mercurio total en sedimentos	34
III.9. Contaminantes orgánicos en sedimentos.....	42
III.10. Factores de normalización para metales y metaloides.....	94

Anexo I

PLANILLAS DE RECOLECCIÓN DE MUESTRAS DE SEDIMENTO

Se presentan los formatos para el registro de información de muestreo, utilizados en el proyecto RLA/7/012, descritos en la publicación “Guía para el uso de sedimentos en la reconstrucción histórica de la contaminación en zonas costeras”.

- I.1. Planilla de recolección de sedimentos superficiales
- I.2. Planilla de recolección de cores de sedimentos
- I.3. Planilla de caracterización de los cores

I

I.1. PLANILLA DE RECOLECCIÓN DE SEDIMENTOS SUPERFICIALES

ORGANISMO INTERNACIONAL DE ENERGÍA ATÓMICA Proyecto RLA/7/012

País _____ Institución: _____ Sitio de muestreo: _____

Fecha (dd/mm/aa): _____ Método de recolección: _____ Espesor de la muestra recolectada: _____

Estación ^a	Latitud ^a	Longitud ^a	Prof (m) ^a	Hora	Temperatura	Salinidad	pH	Oxígeno disuelto	Marea	Viento

Responsable de la campaña: _____

Nombre del responsable de la toma de muestras: _____

Observaciones: _____

^aInformación imprescindible. Nota: favor de adjuntar un mapa con coordenadas de las estaciones de muestreo.

I.2. PLANILLA DE RECOLECCIÓN DE CORES DE SEDIMENTOS

ORGANISMO INTERNACIONAL DE ENERGÍA ATÓMICA

Proyecto RLA/7/012

País: _____ Institución: _____ Localidad: _____ Estación: _____

Fecha (dd/mm/aa): _____ Hora (24h): _____ Profundidad: _____ Latitud: _____ Longitud: _____

Condiciones climáticas: estado del mar (calma, oleaje fuerte, etc): _____ Viento: Dirección: _____ Velocidad (m.s⁻¹): _____

Cobertura de nubes: _____ Responsable de la campaña: _____

	Temperatura (°C)	Salinidad	pH	Oxígeno disuelto (mg L ⁻¹)
Superficie				
Fondo				

Código del Core	Longitud (cm)	Responsable de recolección

Observaciones: _____

Anexo II

INFORMES ANALÍTICOS

Se presentan indicaciones para preparar informes de resultados analíticos y un ejemplo del formato de informe, utilizados en el proyecto RLA/7/012, descritos en la publicación “Guía para el uso de sedimentos en la reconstrucción histórica de la contaminación en zonas costeras”.

- II.1. Preparación de informes de resultados analíticos
- II.2. Ejemplo de informe analítico

II.1. PREPARACIÓN DE INFORMES DE RESULTADOS ANALÍTICOS

Se describe la información que los laboratorios analíticos deberán presentar al informar los resultados de los análisis que les fueron asignados (Cuadro II.2, Sección II.1.5, donde se listan los ensayos que realizará cada laboratorio). Se deberá presentar un informe de resultados por cada core analizado.

II.1.1. Información general

- Análisis: lista de los análisis realizados
- Laboratorio: nombre del laboratorio o unidad que realizó los análisis (institución y país).
- Personal: persona(s) responsable(s) de los resultados

II.1.2. Descripción de los métodos

Cada laboratorio participante hará una breve descripción de los métodos de análisis utilizados, incluyendo la siguiente información:

- a) Preparación de la muestra: describir brevemente el tratamiento que se le realiza a la muestra antes del ensayo, por ejemplo: secado, molienda, tamizado, etc.
- b) Descripción del método de ensayo: descripción del método que incluya al menos los equipos principales utilizados, los métodos de calibración y la referencia del método estándar utilizado.
- c) Control de calidad: método y frecuencia de los controles de calidad, incluyendo enumeración de materiales de referencia empleados y reporte de los valores obtenidos para los materiales de referencia certificados.
- d) Incertidumbre: breve descripción del método utilizado para el cálculo de las incertidumbres y las fuentes consideradas.

II.1.3. Presentación de resultados

Los resultados de los análisis deberán ser presentados en el formato del Cuadro II.1.:

CUADRO II.1. FORMATO GENERAL DE INFORME DE RESULTADOS ANALÍTICOS

Código de la muestra	Elemento/Radionúclido/Mineral/Compuesto/Parámetro	
	Actividad/Concentración/UNIDAD	Incertidumbre absoluta UNIDAD
Según instrucciones en Sección 7 de este manual		

Pueden reportarse varios elementos en un mismo informe que provengan del mismo ensayo; ejemplo: radionúclidos por espectrometría de rayos gamma, elementos por FR-X, etc. Las unidades en las que se informan los resultados deben ser claramente establecidas en el encabezado de cada columna (de conformidad Cuadro II.2, Sección II.1.5.).

II.1.4. Códigos de identificación de las muestras

Cada informe de ensayo deberá conservar el código de procedencia del core incluyendo el análisis (ver instrucciones de codificación, Sección 7). Ejemplo: RLA7012CUB060208BI-XRF.

II.1.5. Informes de resultados analíticos

A continuación, se describe la información que los laboratorios analíticos deberán presentar al informar los resultados de los análisis que les fueron asignados (ver Cuadro II.2, donde se listan los ensayos que realizará cada laboratorio). Se deberá presentar un informe de resultados por cada core analizado.

Información general

- a) Análisis: lista de los análisis realizados
- b) Laboratorio: nombre del laboratorio que realizó los análisis (institución y país).
- c) Personal: persona(s) responsable(s) de los resultados

Descripción de los métodos

Cada laboratorio participante hará una breve descripción de los métodos de análisis utilizados, incluyendo la siguiente información:

- a) Preparación de la muestra: describir brevemente el tratamiento que se le realiza a la muestra antes del ensayo, por ejemplo: secado, molienda, tamizado, etc.
- b) Descripción del método de ensayo: descripción del método que incluya al menos los equipos principales utilizados, los métodos de calibración y la referencia del método estándar utilizado.
- c) Control de calidad: método y frecuencia de los controles de calidad, incluyendo enumeración de materiales de referencia empleados y reporte de los valores obtenidos para los materiales de referencia certificados.
- d) Incertidumbre: breve descripción del método utilizado para el cálculo de las incertidumbres y las fuentes consideradas.

Presentación de resultados

Los resultados de los análisis deberán ser presentados de conformidad a la Sección II.1.3.

Códigos de identificación de las muestras

Cada informe de ensayo deberá conservar el código de procedencia del corer incluyendo el análisis (ver instrucciones de codificación del manual). Ejemplo: RLA7012CUB060208BI-XRF.

CUADRO II.2. INSTITUCIONES RESPONSABLES DE LOS ANÁLISIS REALIZADOS

Análisis (unidad)	Institución
HUM (%)	Todos los países participantes en el proyecto RLA/7/012
PPI (%)	Todos los países participantes en el proyecto RLA/7/012
C-N (%)	División de Química, CIEMAT. ESPAÑA. Instituto de Ciencias del Mar y Limnología, Mazatlán. UNAM. MEXICO
XRF (% , mg kg ⁻¹)	División de Química, CIEMAT. ESPAÑA. Sección Radiometría. Marine Environmental Laboratory. IAEA. Laboratorio de Ensayos Ambientales. CEAC. CUBA.
DRX	División de Química, CIEMAT. ESPAÑA.
GAM (Bq kg ⁻¹)	División de Química, CIEMAT. ESPAÑA. Laboratorio de Ensayos Ambientales. CEAC. CUBA. Sección Radiometría. Marine Environmental Laboratory. IAEA.
ALF (Bq kg ⁻¹)	Instituto de Ciencias del Mar y Limnología, Mazatlán. UNAM. MEXICO. Sección Radiometría. Marine Environmental Laboratory. IAEA. Laboratorio de Ensayos Ambientales. CEAC. CUBA.
GRA (%)	División de Química, CIEMAT. ESPAÑA. Sección Radiometría. Marine Environmental Laboratory. IAEA.
AMA (µg kg ⁻¹)	División de Química, CIEMAT. ESPAÑA. Centro de Investigaciones de los Recursos Acuáticos de Nicaragua (CIRA). UNAM. NICARAGUA.
HAP (mg kg ⁻¹)	CIMAB, CUBA INVEMAR, COLOMBIA CICA, COSTA RICA INDICASAT, PANAMA Universidad de Oriente, IOV, REPÚBLICA BOLIVARIANA DE VENEZUELA
PLA (mg kg ⁻¹)	CIMAB, CUBA INVEMAR, COLOMBIA CICA, COSTA RICA INDICASAT, PANAMA Universidad de Oriente, IOV, REPÚBLICA BOLIVARIANA DE VENEZUELA

II.2. EJEMPLO DE INFORME ANALITICO

Este ejemplo incluye datos ficticios, sólo para propósitos demostrativos.

NOMBRE DEL LABORATORIO:

INSTITUCION:

REF: Código de core y análisis
EJ: RLA7012MEX010508AIII-CN

INFORME DE RESULTADOS CARBONO TOTAL, CARBONO INORGÁNICO Y NITRÓGENO TOTAL

Lugar, fecha: _____

Laboratorio asignado: División de Química del CIEMAT

Técnica utilizada: análisis por combustión y analizador específico de carbono orgánico total

Responsables de los análisis:

Perla Griselle Mellado Vazquez, becaria del OIEA

Cristina García Diego, técnico del Laboratorio de Análisis Iónico y Elemental

Alberto José Quejido Cabezas, Jefe de la División de Química

II.2.1. Descripción del método

Preparación de las muestras.

Las muestras recibidas en la División de Química del CIEMAT fueron traídas directamente por parte del becario del Proyecto, Dña. Perla Griselle Mellado Vázquez, siendo las cantidades enviadas suficientes para la medida de los parámetros a determinar. Las muestras no tenían un grado de molienda suficiente para la preparación directa para análisis elemental, por lo que se tuvo de procesar de nuevo el material enviado. La muestra se terminó de homogeneizar y se pulverizó a un tamaño de grano de unas 63 μm , con un mortero de ágata.

Análisis de carbono y nitrógeno total

El carbono total (C_{tot}) y nitrógeno total (N_{tot}) se determinaron con un analizador elemental LECO TRUSPEC. Se pesan por duplicado, del orden de 100 a 150 mg de la muestra previamente secada, molida y homogeneizada, dentro de un contenedor de Sn, en una balanza analítica. El contenedor se cierra herméticamente y se coloca en el muestreador automático, desde donde se introduce en el horno de combustión. En este horno se mantiene durante 2 a 3 minutos en varias etapas, en presencia de distintos contenidos de O_2 en la corriente del gas portado (perfil de combustión) para asegurar su completa oxidación. Los gases generados en todo este tiempo son recogidos en un contenedor de 4.5 litros y una vez mezclados, una alícuota pequeña de los mismos fluye a los detectores dónde son determinados el CO_2 mediante un detector de infrarrojo y el N_2 , previo paso de los gases por el tubo de reducción de Cu, por el de conductividad térmica.

Para establecer las curvas de calibrado, se utilizan dos patrones certificados, con diferentes contenidos de C y N, para cubrir un amplio intervalo de calibración: un patrón de Suelo (Soil LECO / 502-062 / Lote 1012) con contenidos de N 0.130 ± 0.018 ($k=2$) % y de C 1.30 ± 0.04 ($k=2$) % y el Patrón Suelo (Soil LECO / 502-309 / Lote 1002), N 0.80 ± 0.02 ($k=2$) % y C 10.14 ± 0.10 ($k=2$) %. Se pesan dentro del contenedor de Sn diferentes cantidades, del orden de 50, 100 y 150 mg de estos materiales de referencia certificados y se introducen en el analizador de modo similar a las muestras. Al representar la señal obtenida en los detectores frente a los mg absolutos de C y N presentes en los patrones, se obtienen las curvas de calibrado para el N y el C.

Previamente se introducen varias muestras como blancos, habitualmente una cápsula de Sn vacía y el área media obtenida se resta automáticamente para estos elementos, tanto de la señal obtenida para los patrones como de las muestras. Una vez finalizado el análisis, se establece el valor medio del blanco y se obtienen las curvas de calibrado a partir de los resultados de los patrones. La curva de calibrado del N se ajusta a una calibración lineal de primer grado y la del C se realiza un ajuste cuadrático. El contenido de C y N de las muestras se recalcula a partir de las nuevas curvas de calibrado obtenidas.

Análisis de carbono inorgánico total

La determinación de Carbono Inorgánico Total (TIC) se realiza utilizando el módulo de Análisis de Muestras Sólidas SSM-5000 (Shimadzu), mediante una pre-acidificación con ácido fosfórico en un horno a 200° C. Este módulo es un accesorio especial para las series de analizadores de Carbono Orgánico Total, (Shimadzu). El CO₂ producido se transporta, en corriente de aire, y se mide en el analizador de infrarrojos no dispersivo NDIR de alta sensibilidad del TOC-V. Se sigue el procedimiento de análisis descrito en la norma Europea UNE-EN 13137:2002. Para la cuantificación se empleó una línea de calibración a partir de CaCO₃ ($R^2 = 0.9991$).

El Carbono Orgánico Total (TOC) se establece por diferencia a partir de los resultados obtenidos de C total y C inorgánico según la norma UNE reseñada anteriormente

II.2.2. Control de calidad

Análisis de carbono y nitrógeno total

Se analizan al menos los dos patrones por duplicado y un par de blancos cada 10 muestras. A lo largo del periodo de análisis se efectuaron un total de 25 medidas de cada uno de los patrones. Se han medido los materiales de referencia certificados Soil LECO / 502-062 / Lote 1012 y Soil LECO / 502-309 / Lote 1002. Los resultados obtenidos son los siguientes:

Soil LECO / 502-062 / Lote 1012:

Elemento	Obtenido	Incertidumbre	Certificado	Incertidumbre	Dif (%)
C _{tot} (%)	1.315	0.078	1.30	0.02	1.2
N _{tot} (%)	0.1317	0.0044	0.130	0.009	1.3

Soil LECO / 502-309 / Lote 1002:

Elemento	Obtenido	Incertidumbre	Certificado	Incertidumbre	Dif (%)
C _{tot} (%)	10.08	0.018	10.14	0.05	-0.64
N _{tot} (%)	0.7859	0.0008	0.80	0.01	-1.8

II.2.3. Cálculo de incertidumbre

La incertidumbre se calculó como la desviación estándar resultante del análisis de al menos 2 réplicas de cada muestra del core. Las masas tomadas de las muestras son diferentes, por lo que, para facilitar la comparación entre resultados, se reporta también la desviación estándar relativa. Este ejemplo incluye datos ficticios, sólo para propósitos demostrativos.

Adicionalmente, se han comparado las incertidumbres obtenidas para las muestras con las incertidumbres obtenidas en las medidas de los materiales de referencia, mediante la aplicación de pruebas F, observándose generalmente una incertidumbre comparable entre ambos tipos de materiales, si bien es superior en las muestras que poseen un contenido muy bajo de N total.

Referencia	C _{tot} (%)		N _{tot} (%)	
	U _C	RSD (%)	U _N	RSD (%)
RLA7012MEX010508AIII0-1	0.02	1.19	0.021	14.09
RLA7012MEX010508AIII1-2	0.06	3.54	0.007	5.24
RLA7012MEX010508AIII2-3	0.00	0.00	0.007	5.66
RLA7012MEX010508AIII3-4	0.01	0.90	0.021	13.69
RLA7012MEX010508AIII4-5	0.01	0.47	0.014	8.84
RLA7012MEX010508AIII5-6	0.01	0.42	0.000	0.00
RLA7012MEX010508AIII6-7	0.02	1.25	0.007	4.56
RLA7012MEX010508AIII7-8	0.03	1.82	0.007	4.88
RLA7012MEX010508AIII8-9	0.04	2.40	0.007	5.66
RLA7012MEX010508AIII9-10	0.04	3.14	0.007	7.44
RLA7012MEX010508AIII10-11	0.08	5.62	0.007	7.44
RLA7012MEX010508AIII11-12	0.06	4.71	0.007	7.44
RLA7012MEX010508AIII12-13	0.08	7.04	0.015	21.37
RLA7012MEX010508AIII13-14	0.00	0.00	0.023	31.87
RLA7012MEX010508AIII14-15	0.02	2.05	0.017	24.96
RLA7012MEX010508AIII15-16	0.06	5.34	0.010	16.46
RLA7012MEX010508AIII16-17	0.04	4.12	0.004	5.48
RLA7012MEX010508AIII17-18	0.03	2.95	—	—
RLA7012MEX010508AIII18-19	0.02	2.27	—	—
RLA7012MEX010508AIII19-20	0.06	6.40	—	—
RLA7012MEX010508AIII20-21	0.01	0.84	—	—
RLA7012MEX010508AIII21-22	0.01	0.83	—	—
RLA7012MEX010508AIII22-23	0.06	6.22	—	—
RLA7012MEX010508AIII23-24	0.05	5.47	—	—
RLA7012MEX010508AIII24-25	0.04	3.86	—	—
RLA7012MEX010508AIII25-26	0.01	1.46	—	—
Soil LECO / 502-062 / Lote 1012	0.078	5.91	0.0044	3.33
Soil LECO / 502-309 / Lote 1002	0.018	0.18	0.0008	0.10

U_C, U_N= Incertidumbre de las mediciones de C_{tot} y N_{tot}, respectivamente.

RSD (%)= desviación estándar relativa

II.2.4. Resultados

El ejemplo siguiente incluye datos ficticios, sólo para propósitos demostrativos.

Carbono total (C_{tot}) y nitrógeno total (N_{tot})

Referencia	C_{tot} (%)		N_{tot} (%)	
	Conc	U_C	Conc	U_N
RLA7012MEX010508AIII0-1	1.785	0.021	0.146	0.021
RLA7012MEX010508AIII1-2	1.600	0.057	0.135	0.007
RLA7012MEX010508AIII2-3	1.520	0.000	0.125	0.007
RLA7012MEX010508AIII3-4	1.570	0.014	0.155	0.021
RLA7012MEX010508AIII4-5	1.505	0.007	0.160	0.014
RLA7012MEX010508AIII5-6	1.695	0.007	0.140	0.000
RLA7012MEX010508AIII6-7	1.695	0.021	0.155	0.007
RLA7012MEX010508AIII7-8	1.550	0.028	0.145	0.007
RLA7012MEX010508AIII8-9	1.475	0.035	0.125	0.007
RLA7012MEX010508AIII9-10	1.125	0.035	0.095	0.007
RLA7012MEX010508AIII10-11	1.385	0.078	0.095	0.007
RLA7012MEX010508AIII11-12	1.200	0.057	0.095	0.007
RLA7012MEX010508AIII12-13	1.105	0.078	0.070	0.015
RLA7012MEX010508AIII13-14	1.110	0.000	0.071	0.023
RLA7012MEX010508AIII14-15	1.035	0.021	0.068	0.017
RLA7012MEX010508AIII15-16	1.060	0.057	0.059	0.010
RLA7012MEX010508AIII16-17	1.030	0.042	0.065	0.004
RLA7012MEX010508AIII17-18	0.960	0.028	<0.05	-
RLA7012MEX010508AIII18-19	0.935	0.021	<0.05	-
RLA7012MEX010508AIII19-20	0.995	0.064	<0.05	-
RLA7012MEX010508AIII20-21	0.845	0.007	<0.05	-
RLA7012MEX010508AIII21-22	0.855	0.007	<0.05	-
RLA7012MEX010508AIII22-23	0.910	0.057	<0.05	-
RLA7012MEX010508AIII23-24	0.905	0.049	<0.05	-
RLA7012MEX010508AIII24-25	0.915	0.035	<0.05	-
RLA7012MEX010508AIII25-26	0.970	0.014	<0.05	-

U_C , U_N = Incertidumbre de las mediciones de C_{tot} y N_{tot} , respectivamente.

Carbono inorgánico total (TIC)

Se analizaron una de cada 5 muestras del core, a fin de determinar el fondo de carbonatos del mismo, dado que los niveles de carbono total son muy similares a lo largo del perfil. El carbono orgánico total se calculó por diferencia entre C_{tot} y C_{tic} . El ejemplo siguiente incluye datos ficticios, sólo para propósitos demostrativos.

Referencia	Carbono inorgánico		Carbono orgánico	
	Conc (%)	U _{TIC}	Conc (%)	U _{Toc}
RLA7012MEX010508AIII0-1	0.398	0.002	1.388	0.021
RLA7012MEX010508AIII5-6	<0.30	–	1.695	0.007
RLA7012MEX010508AIII10-11	<0.30	–	1.385	0.078
RLA7012MEX010508AIII15-16	0.469	0.001	0.591	0.057
RLA7012MEX010508AIII20-21	0.625	0.016	0.220	0.017
RLA7012MEX010508AIII25-26	0.746	0.003	0.224	0.014

Anexo III

MÉTODOS DE ANÁLISIS

Se describen los métodos para el análisis de variables en sedimentos, utilizados en el proyecto RLA/7/012, descritos en la publicación “Guía para el uso de sedimentos en la reconstrucción histórica de la contaminación en zonas costeras”.

- III.1. Contenido de humedad en el sedimento
- III.2. Pérdidas por ignición
- III.3. Preparación de muestras para análisis de actividad de ^{210}Po en sedimentos
- III.4. Actividad de radionúclidos por espectrometría de rayos gamma
- III.5. Preparación de muestras para análisis de tamaño de grano
- III.6. Composición elemental por espectrometría de fluorescencia de rayos X (XRF)
- III.7. Determinación de carbono total, nitrógeno total, carbono inorgánico total y carbono orgánico total
- III.8. Concentración de mercurio total en sedimentos
- III.9. Contaminantes orgánicos en sedimentos
- III.10. Factores de normalización para metales y metaloides

III.1. CONTENIDO DE HUMEDAD EN EL SEDIMENTO

El contenido de humedad de los sedimentos es una variable muy útil para en el estudio de núcleos sedimentarios, ya que que puede ser utilizada para estimar la porosidad y la densidad de los sedimentos.

III.1.1. Materiales

- Sedimento húmedo (sección del core);
- estufa (45°C);
- balanza (± 0.001 g);
- bolsas de plástico con cierre hermético;
- espátulas.

III.1.2. Procedimiento

1. Determinar el peso de la bolsa de plástico (tara).
2. Transferir el sedimento húmedo con una espátula al interior de la bolsa de plástico.
3. Registrar el peso total del sedimento húmedo (bolsa+sedimento).
4. Secar el sedimento en la estufa a una temperatura máxima de 45°C, el tiempo que sea necesario hasta llegar a peso constante.
El peso constante se alcanza cuando la diferencia entre pesadas de una sola muestra es menor a 1%.
5. Retirar la muestra de la estufa y colocarla en un desecador hasta que esté a temperatura ambiente.
6. Pesar y anotar el peso total del sedimento seco (bolsa + sedimento).
7. Calcular el contenido de humedad relativa (en porcentaje, %) como sigue:

$$\text{Humedad (\%)} = \left(\frac{\text{Peso}_{\text{sedimento húmedo}} - \text{Peso}_{\text{sedimento seco}}}{\text{Peso}_{\text{sedimento húmedo}}} \right) \times 100$$

III.2. PÉRDIDAS POR IGNICIÓN

La estimación del porcentaje de materia orgánica en sedimentos por medio del método de pérdidas por ignición (PPI₅₅₀) está basado en la pérdida de peso ocasionada por la combustión a 550 °C de los sedimentos hasta convertirse en cenizas y dióxido de carbono [1].

La muestra debe estar perfectamente seca (verificar que se encuentre a peso constante) y por tanto, el resultado está expresado en porcentaje, con base a peso seco.

III.2.1. Materiales:

- Crisoles de porcelana;
- mufla con capacidad de calentamiento a 550 °C y 950 °C (temperatura constante);
- espátulas;
- balanza (± 0.001 g).

III.2.2. Procedimiento:

1. Secar los crisoles de porcelana durante al menos 12 h en una estufa a 105 °C. Dejarlos enfriar a temperatura ambiente en desecador y registrar el peso.
2. Homogeneizar la muestra de sedimento seco y molido (verificar que se encuentra a peso constante) y pesar alrededor de 0.5 g, registrar el peso.
3. Llevar a combustión a 550 °C durante 4 horas [2].
4. Retirar de la mufla cuando la temperatura haya descendido a 100 °C.
5. Dejar enfriar a temperatura ambiente en desecador y registrar el peso.

Las PPI₅₅₀ se calculan con la ecuación E.1:

$$PPI_{550}(\%) = \frac{PSI_{inic} - PSI_{550}}{PSI_{inic}} * 100 \quad E.1$$

donde:

PPI₅₅₀ representa la pérdida por ignición a 550°C (%), PSI_{inic} representa el peso seco de la muestra antes de la combustión y PSI₅₅₀ el peso de la muestra después de la combustión a 550°C (ambos pesos en gramos). El valor de PPI₅₅₀ debería ser proporcional a la cantidad de materia orgánica contenida en la muestra y puede ser convertido a porcentajes de carbono orgánico al multiplicar el valor de PPI₅₅₀ por el factor de 0.5 [3].

Así, en una segunda fase de combustión (seguir los pasos 3 a 5), ahora a 950°C, durante 2 horas, la pérdida por ignición a 950°C (PPI₉₅₀) puede ser utilizada para estimar la concentración de carbonatos en las muestras, mediante la ecuación E.2:

$$PPI_{950}(\%) = \frac{PSI_{550} - PSI_{950}}{PSI_{inic}} * 100 \quad E.2$$

donde:

PPI₉₅₀ representa las pérdidas por ignición a 950°C (%), PSI₅₅₀ es el peso de la muestra después de la combustión a 550°C, PSI₉₅₀ el peso de la muestra después de la combustión a 950°C y PSI_{inic} el peso seco de la muestra antes de la combustión (pesos en gramos). Asumiendo una proporción en peso de 1.36 entre las moléculas de carbonato (CO₃²⁻, 60 g mol⁻¹) y de dióxido de carbono (44 g mol⁻¹), la pérdida de peso por PPI₉₅₀ multiplicada por 1.36 equivale al peso de los carbonatos en la muestra original [4].

REFERENCIAS

- [1] DEAN, W. E. JR., Determination of carbonate and organic matter in calcareous sediments and sedimentary rocks by loss on ignition: Comparison with other methods. *Journal of Sedimentary Petrology* **44** (1974) 242–248.
- [2] HEIRI, O., LOTTER, A. F., LEMCKE G., Loss on ignition as a method for estimating organic and carbonate content in sediments: reproducibility and comparability of results, *Journal of Paleolimnology* **25** (2001) 101-110.
- [3] PRIBYL, D. W., A critical review of the conventional SOC to SOM conversion factor. *Geoderma* **156** (2010) 75-83.
- [4] BENGTTSSON, L., M. ENELL, Chemical Analysis. In: Berglund, B. E. (ed.), *Handbook of Holocene Palaeoecology and Palaeohydrology*. John Wiley & Sons Ltd., Chichester, 423–451.

III.3. PREPARACIÓN DE MUESTRAS PARA ANÁLISIS DE ACTIVIDAD DE ^{210}Po EN SEDIMENTOS

Se describe el procedimiento radioquímico de muestras de sedimento para aislar isótopos de polonio, mediante depósito espontáneo en discos de plata (de acuerdo a [1], adaptado de [2]), previo al análisis de actividad por espectrometría de partículas alfa.

III.3.1. Reactivos

- HCl concentrado y 0.5 N;
- HNO₃ concentrado;
- HF concentrado;
- ^{209}Po como trazador de recuperación;
- ácido ascórbico;
- H₂O desionizada MilliQ;
- alcohol metílico;
- limpiador de plata;
- pintura acrílica en aerosol;
- jabón libre de fosfatos.

III.3.2. Materiales

- Balanza analítica;
- recipientes de teflón (50 ml de capacidad) con tapa de rosca, cerrado hermético;
- micropipetas de volumen variable (capacidad máxima de 5, 1 y 0.1 ml);
- plancha de calentamiento con control de temperatura;
- tubos de centrifuga (50 ml);
- centrifuga;
- vasos de precipitado de vidrio (250 ml);
- discos de plata, 2.5 cm diámetro;
- agitador orbital;
- espectrómetro alfa.

III.3.3. Procedimiento

1. Pesar de 0.1 a 0.5 g de sedimento seco y molido en un recipiente de teflón (con tapa hermética) utilizando una balanza con precisión mínima de 0.001 g.
2. Agregar una cantidad conocida de trazador de ^{209}Po y registrar el peso.
3. Agregar 4 ml HCl_{conc}+5 ml HNO_{3conc}+1 ml HF_{conc}.
4. Cerrar herméticamente el recipiente y calentar a 150°C por 8 horas (o durante la noche).
5. Retirar de la plancha y esperar a que el recipiente se enfríe a temperatura ambiente.
6. Abrir el recipiente, enjuagar la tapa con HCl_{conc} y verter el enjuague en el recipiente.
7. Evaporar la mezcla de ácidos a temperatura controlada (<90°C) hasta sequedad. Nota: es un buen momento para comenzar a preparar los discos de plata para el depósito de los isótopos de Po (ver instrucciones en el punto 16).
8. Agregar HCl_{conc} nuevamente y dejar evaporar. Repetir este paso 2 veces.
9. Resuspender el residuo usando HCl 0.5N, cuidando de enjuagar minuciosamente las paredes del recipiente y transferir la solución de la muestra a un tubo de centrifuga de 50 ml.

10. Centrifugar a 4000 rpm por 10 minutos y recuperar la solución sobrenadante en un vaso de precipitado de 250 ml. Resuspender el residuo con HCl 0.5N, centrifugar nuevamente por 10 minutos y agregar el sobrenadante al vaso de precipitado con la muestra del centrifugado anterior.
11. Agregar aproximadamente 200 mg ácido ascórbico (o hasta que la solución se torne incolora).
12. Colocar un disco de plata en el fondo del vaso de precipitado con la cara pulida hacia arriba y colocar el vaso de precipitados en un agitador orbital, a temperatura ambiente, durante 8 horas.
13. Sacar el disco de plata del vaso de precipitado, enjuagar con H₂O desionizada; posteriormente con alcohol metílico y dejar secar.
14. Una vez que el disco esté seco, guardar en una cajita de plástico o cartón (Nota: un sobre de papel o una bolsita de plástico funcionan de igual forma) anotando claramente la clave de identificación de la muestra.
15. El disco de plata (2 cm de diámetro, 0.25 cm de espesor) debe limpiarse previamente con solución limpia-plata para eliminar rastros de oxidación. Estos discos normalmente tienen una cara pulida y otra sin pulir; si éste es el caso, se recomienda tener cuidado de identificar la cara pulida y pintar la cara no pulida con pintura acrílica en spray, con lo cual se evitará el depósito de los isótopos de Po en la cara que no estará expuesta a los detectores. Dejar secar la pintura al menos 2 h antes de usar los discos.
16. Poner el disco de plata en el detector alfa y esperar a que ambos isótopos (trazador de ²⁰⁹Po y ²¹⁰Po de la muestra) alcancen al menos 400 cuentas netas (equivalentes a 5% de incertidumbre de conteo). Para más información sobre la determinación de ²¹⁰Po por espectrometría de partículas alfa y modelos de fechado con ²¹⁰Pb, se sugiere consultar [3].

REFERENCIAS

- [1] RUIZ-FERNÁNDEZ, A.C., HILLAIRE-MARCEL, C., ²¹⁰Pb-derived ages for the reconstruction of terrestrial contaminant history into the Mexican Pacific coast: Potential and limitations, *Marine Pollution Bulletin* **59** (2009) 134-145.
- [2] FLYNN, W.W., The determination of low levels of polonium-210 in environmental materials, *Analytical Chimica Acta* **43** (1968) 221-227.
- [3] ORGANISMO INTERACIONAL DE ENERGÍA ATÓMICA. Radiocronología de Sedimentos Costeros Utilizando ²¹⁰Pb: Modelos, Validación y Aplicaciones. OIEA, Viena, 2012.

III.4. ACTIVIDAD DE RADIONÚCLIDOS POR ESPECTROMETRÍA DE RAYOS GAMMA

III.4.1. Objetivos

Establecer los requisitos y el orden de trabajo para realizar el ensayo Espectrometría Gamma.

III.4.2. Alcance

Es aplicable a las mediciones gamma espectrométricas realizadas en sistemas con detector semiconductor HPGe.

III.4.3. Definiciones

- Actividad: número de desintegraciones radiactivas en la unidad de tiempo. La unidad de esta magnitud en el SI es el Becquerel ($1 \text{ Bq} = 1 \text{ s}^{-1}$);
- Actividad Específica: es la actividad normalizada por los valores de las magnitudes propias de la muestra ensayada y el proceso de muestreo;
- Area: región del pico por encima de la frontera superior del Pedestal que contiene los conteos correspondientes a los cuantos gamma del radionúclido en la muestra;
- Eficiencia Absoluta de Pico: número de conteos registrados bajo el pico de absorción total de energía entre el número total de cuantos gamma con esa energía emitidos por la muestra durante el tiempo de medición. Depende de la geometría de medición;
- Espectro: función discreta que relaciona el número de conteos y el número del canal atendiendo a la energía que los cuantos gamma depositan en el detector;
- Geometría de Medición: es la configuración espacial que ocurre en el conjunto muestra-detector, donde ejercen gran influencia en los resultados de las mediciones: la forma del envase donde está contenida la muestra y la posición del mismo con respecto al detector. Existen diversas geometrías de medición;
- Integral: región del pico que contiene los conteos del fondo más los conteos del radionúclido en la muestra; $\text{Integral} = \text{Area} + \text{Pedestal}$;
- Límite Crítico: definido como el valor de tasa de conteo neta, el cual debe ser excedido antes de plantearse que la muestra contiene algún material radiactivo medible superior al fondo;
- Nivel "Less Than": describe la cantidad de material radiactivo que pudiera estar presente, aunque éste no sea detectado; se define como la tasa de conteo neta máxima que una muestra pudiera tener; es un concepto basado en la tasa de conteo neta que se mide, siendo, ésta menor que el límite crítico;
- Límite de Detección: se define como la cantidad más pequeña de material radiactivo que puede ser detectada con algún grado de confianza especificado;
- Límite de Determinación: se define como la menor tasa de conteo neta, la cual puede ser detectada con una incertidumbre relativa especificada;
- Pedestal: región del pico delimitada por sus fronteras en la zona que contiene los conteos del fondo;
- Tasa de Conteo: número de conteos registrados en determinada zona del espectro dividido por el tiempo durante el cual se registraron.

III.4.4. Complementarios

Metodología para el cálculo del área del fotopico y estimación del tiempo de medición.

Fórmulas para el cálculo de la actividad específica según el tipo de muestra.

III.4.5. Responsabilidades

Es responsabilidad del Especialista en Mediciones Físicas cumplir con lo regulado en este procedimiento.

III.4.6. Desarrollo

Los sistemas espectrométricos permiten obtener la relación entre la cantidad de cuantos gamma que inciden en el detector y la energía de los mismos. La presencia de un radionúclido en la muestra se determina por un aumento de los conteos en las zonas energéticas de sus cuantos gamma característicos. Estando el sistema calibrado y una vez registrada la información de cada radionúclido, podemos determinar su actividad.

El ensayo Espectrometría Gamma tiene como objetivo determinar la actividad específica de los radionúclidos en la muestra objeto de ensayo; para lograrlo deben ejecutarse las acciones según determinado orden:

1. Monitoree y registre en el registro primario los parámetros ambientales, los cuales deben estar en el intervalo siguiente: Temperatura: [18, 26] °C y Humedad Relativa: [48, 60] %.
2. Chequeo de los parámetros de Control.
 - a. Consiste en la comprobación periódica del valor de los parámetros del detector que pueden variar por alguna causa. Se comprueban el valor de la eficiencia del detector para determinada energía y determinada geometría y el valor del número de conteos del fondo para determinado intervalo energético.
 - b. Coloque un patrón adecuado en el lugar de medición, ajuste la posición del pico en el canal que le corresponde, colecte el espectro y calcule el área del pico garantizando una incertidumbre relativa menor que 5%. Utilice la metodología explicada en la Sección III.4.11 o algún programa procesador de espectros previamente validado, y finalmente calcule la eficiencia absoluta de pico según la siguiente fórmula:

$$\varepsilon = \frac{R_t - R_f}{A_p P_\gamma}$$

donde:

- R_t tasa de conteo del radionúclido del patrón más el fondo;
 R_f tasa de conteo del radionúclido en el fondo;
 A_p actividad del patrón;
 P_γ probabilidad de emisión de los cuantos gamma.

Nota: actualice la actividad del patrón el día de la medición teniendo en cuenta que ocurrió la desintegración del radionúclido en el intervalo de tiempo transcurrido desde la fecha de referencia hasta el día de la medición. Utilice la siguiente fórmula:

$$A_p = A_0 e^{-0.693 t/T_{1/2}}$$

donde:

A_0 actividad del patrón reportada para la fecha de referencia;
 t tiempo transcurrido desde la fecha de referencia hasta el día de la medición;
 $T_{1/2}$ período de semidesintegración del radionúclido que conforma el patrón.

- c. Lleve el valor obtenido a un gráfico de control y analice el comportamiento del parámetro.
- d. Si del análisis del gráfico de control concluye que la eficiencia está controlada, tiene un requisito a su favor para realizar el ensayo, si está fuera de control no realice el ensayo, chequee los parámetros ambientales, el voltaje de trabajo del detector y la geometría de medición o analice el funcionamiento de todos los elementos del sistema para detectar aquel que contribuye a la no aptitud.
- e. Recolecte el espectro de fondo durante 2000s y determine la Integral para el intervalo (300 – 1400) keV.
- f. Actúe como en el inciso c., pero con el valor de tasa de conteos correspondiente a la Integral determinada.
- g. Si el fondo está controlado tiene el segundo requisito a su favor para realizar el ensayo.
- h. Si está fuera de control y sospecha una posible contaminación, proceda a descontaminar el detector con ácido cítrico al 1%, alguna solución aglutinante (EDTA) y agua destilada. Para ello tome paños humedecidos con las sustancias mencionadas, utilizando guantes impermeables y alternando limpie la superficie del detector; cambie de paños varias veces utilizando una misma sustancia, para garantizar el arrastre total de la contaminación.
- i. Posteriormente repita los pasos del inciso e. al inciso g. hasta que el parámetro esté controlado.
- j. Salve los resultados del chequeo de los parámetros de control, mostrando evidencias del control del sistema para efectuar las mediciones.
- k. El requisito fundamental para ejecutar el siguiente paso del ensayo es que los dos parámetros a la vez estén controlados.

III.4.7. Medición de las muestras

Consiste en obtener el espectro de la muestra durante un tiempo que garantice la incertidumbre relativa en el cálculo de la actividad específica exigido en el modelo acompañante.

1. Las muestras para mediciones gamma espectrométricas llegan al área envasada y con su modelo acompañante. Chequee que la muestra cumpla con las características de alguna de las geometrías para las cuales se realizó la calibración y que el modelo acompañante posea todos los datos necesarios para realizar los cálculos.
2. Si al inspeccionar la muestra entregada cumple con los requisitos, acéptela firmando en el Registro de Entrega de Muestras y Modelos de la persona que lo entrega; si no está de acuerdo con la entrega, recházela y las causas como una no conformidad.

3. Una vez chequeados los parámetros de control y cerciorado del correcto funcionamiento del sistema espectrométrico, cubra la muestra con un material fino para evitar la contaminación accidental del detector, colóquela en el lugar de medición y colecte su espectro. Debe tener en cuenta que:
 - a. Las muestras selladas para medir ^{226}Ra y ^{232}Th en condiciones de equilibrio con sus especies hijas deben esperar al menos 20 días para ser medidas.
 - b. Las muestras se miden un tiempo que garantice la incertidumbre relativa en el cálculo de la actividad específica reflejada en el modelo acompañante. Utilice la fórmula de la Sección III.4.11 para estimar este tiempo de medición
 - c. Las muestras con separación radioquímica previa se miden primeramente, durante un tiempo que permita calcular el rendimiento químico del proceso. Si el valor obtenido se corresponde con el requerido por el procedimiento se continúa la medición de la muestra, si no se detiene la medición y se le entrega la muestra al técnico que realizó la separación, anotando lo ocurrido en el modelo acompañante, este hecho se considera una no conformidad.
4. Salve los espectros colectados con el mismo código de la muestra y consérvelos como evidencia del ensayo.

III.4.8. Procesamiento del espectro

Consiste en la identificación de los picos en el espectro atendiendo al conocimiento de la función Energía – Canal; la identificación de los radionúclidos presentes en la muestra, la determinación de los datos necesarios para el cálculo de actividades. Los resultados obtenidos se salvan como evidencias del proceso de ensayo.

Determine la energía que le corresponde a cada pico en el espectro, con la ayuda de una tabla de datos nucleares identifique a los radionúclidos cuyos cuantos gamma poseen un valor de energía muy cercano a alguno identificado. Es suficiente una incertidumbre de ± 0.5 keV para el HPGe. De los radionúclidos identificados seleccione el real presente en la muestra, teniendo en cuenta el porcentaje de salida de los cuantos gammas, la presencia o no de otros fotopicos que pueda tener ese radionúclido, el período de semidesintegración y la probabilidad de estar presente en el tipo de muestra medida, desarrolle estas habilidades.

III.4.9. Cálculo de las actividades

Determine el área y la incertidumbre relativa de los picos por donde se propone a efectuar el cálculo de actividades. Con los datos anteriores calcule la tasa de conteo neta R_s para cada pico por la siguiente fórmula:

$$R_s = R_t - R_b$$

y su incertidumbre

$$u(R_s) = [u^2(R_t) + u^2(R_b)]^{1/2}$$

donde:

R_t tasa de conteo total debido a la presencia del radionúclido en la muestra y en el fondo;
 R_b tasa de conteo debido a la presencia del radionúclido en el fondo;
 $u(R_s)$ incertidumbre en la tasa de conteo neta;
 $u(R_t)$ incertidumbre en la tasa de conteo total;
 $u(R_b)$ incertidumbre en la tasa de conteo del fondo.

Calcule el límite crítico L_c durante el tiempo de medición según:

$$L_c = k \left[\frac{R_b}{T_b} \left(1 + \frac{T_b}{T} \right) \right]^{1/2}$$

donde:

T tiempo de medición de la muestra;
 T_b el tiempo de medición del fondo;
 K es el factor de confianza para las pruebas de una cola correspondiente al 95% (1.65).

Si se cumple $0 < R_s \leq L_c$ calcule el valor “less than” L_t según:

$$L_t = R_s + k u(R_s)$$

Los valores anteriores corresponden a valores de tasa de conteo, los mismos se transforman en actividad absoluta dividiendo por la probabilidad de salida gamma P_γ y la eficiencia ε y en actividad específica normalizando además, por las características propias de la muestra y el proceso de muestreo según las fórmulas de la Sección III.4.12. La actividad absoluta A correspondiente a una tasa de conteo neta mayor que el límite crítico se calcula según:

$$A = \frac{R_s}{P_\gamma \varepsilon}$$

y su incertidumbre $u(A)$ por

$$u(A) = A \left\{ \left(\frac{u(R_s)}{R_s} \right)^2 + \left(\frac{u(\varepsilon)}{\varepsilon} \right)^2 + \left(\frac{u(P_\gamma)}{P_\gamma} \right)^2 \right\}^{1/2}$$

donde $u(P_\gamma)/P_\gamma$ es la incertidumbre relativa en la probabilidad de salida gamma.

La incertidumbre en la determinación de la actividad específica se determina aplicando la Ley de Propagación de Incertidumbres en las ecuaciones de la Sección III.4.12 y valorando el aporte de la incertidumbre de cada magnitud a la incertidumbre total.

De forma general se obtendrá la siguiente fórmula:

$$u(A_e) = A_e \left\{ \left(\frac{u(A)}{A} \right)^2 + \sum_{i=1}^n \left(\frac{u(X_i)}{X_i} \right)^2 \right\}^{1/2}$$

donde:

$u(A_e)$ incertidumbre en la actividad específica;
 A_e actividad específica;
 $u(A)/A$ incertidumbre relativa de la actividad absoluta;
 $u(X_i)/X_i$ incertidumbres relativas de las magnitudes características de la muestra y el proceso de muestreo.

Cuando se analizan radionúclidos de vida media corta, los cuales pueden desintegrarse durante la etapa de muestreo ($t_{muest.} > 0.01T_{1/2}$); por ejemplo, en el muestreo de aerosoles y precipitaciones atmosféricas, se multiplica el valor de la actividad por el coeficiente de desintegración durante el muestreo:

$$\frac{0.693 \frac{t_{muest}}{T_{1/2}}}{1 - e^{-0.693 \frac{t_{muest}}{T_{1/2}}}}$$

donde:

t_{muest} tiempo de muestreo;
 $T_{1/2}$ período de semidesintegración del radionúclido.

Cuando se analizan radionúclidos de vida media corta, los cuales pueden desintegrarse durante la etapa de medición ($t_{med.} > 0.01T_{1/2}$), se multiplica el valor de la actividad por el coeficiente de desintegración durante la medición:

$$\frac{0.693 \frac{t_{med}}{T_{1/2}}}{1 - e^{-0.693 \frac{t_{med}}{T_{1/2}}}}$$

donde:

t_{med} tiempo de medición;
 $T_{1/2}$ período de semidesintegración del radionúclido.

Cuando se desee corregir la actividad hacia la fecha de muestreo, se multiplica el valor de la misma por el coeficiente de corrección por desintegración:

$$e^{\frac{0.693 t_{des}}{T_{1/2}}}$$

donde:

t_{des} tiempo transcurrido desde el muestreo hasta la medición;
 $T_{1/2}$ período de semidesintegración del radionúclido.

Cuando se analizan radionúclidos con energía de sus cuantos gamma menores que 100 keV, como el ^{210}Pb , el ^{241}Am y el ^{234}Th , y existe diferencia entre la densidad del patrón y la densidad de la muestra a medir, se multiplica el valor de la actividad por el coeficiente de atenuación por autoabsorción:

$$\frac{\mu_m \rho_m x_m [1 - e^{(-\mu_p \rho_p x_p)}]}{\mu_p \rho_p x_p [1 - e^{(-\mu_m \rho_m x_m)}]}$$

donde:

μ_m, μ_p coeficientes másicos de atenuación de muestra y patrón;
 ρ_m, ρ_p densidades de la muestra y patrón;
 x_m, x_p grosor efectivo de atenuación para muestra y patrón.

Siempre que no existan en la muestra y en el patrón macrocantidades de elementos con $Z > 20$, el coeficiente másico de atenuación se evaluará según la ecuación:

$$\mu(cm^2 g^{-1}) = 1.287 E^{-0.435}$$

donde E es la energía de los cuantos gamma expresada en keV.

El grosor efectivo de atenuación en el caso del vial se evaluará según la ecuación:

$$X = 0.2 r + 0.8 (h^2 + d^2)^{1/2}$$

donde r, h y d son el radio, la altura y el diámetro del vial respectivamente.

En el caso de recipientes cilíndricos colocados en el tope del detector, el grosor efectivo de atenuación se considera la altura de la muestra en el cilindro.

III.4.10. Reporte de los resultados

Reporte los resultados de la siguiente forma:

- Si la tasa de conteo neta es mayor que el límite crítico; reporte la actividad específica correspondiente y su incertidumbre.
- Si la tasa de conteos neta es menor o igual que el límite crítico y mayor que cero; reporte que el valor de la actividad específica es menor que la actividad específica correspondiente al valor "less than".
- Si la tasa de conteos neta es menor que el límite crítico y menor o igual que cero; reporte que el valor de la actividad específica es menor que la actividad específica correspondiente al límite crítico.

Para cuestiones prácticas de información calcule el límite de detección según:

$$L_d = k^2/T + 2 L_c$$

y el límite de determinación según:

$$L_q = \frac{f_q^2}{2T} \left\{ 1 + \left[1 + \frac{4T R_b (T + T_b)}{f_q^2 T_b} \right]^{1/2} \right\}$$

donde f_q es el recíproco de la incertidumbre relativa especificada. Estos valores se transforman en actividad dividiendo por la probabilidad de salida gamma y la eficiencia, y en actividad específica según las fórmulas de la Sección III.4.12.

Realice el procesamiento del espectro mediante programas validados. Terminado el ensayo, los envases se lavan con abundante agua y luego se someten a la limpieza con una de las sustancias descontaminantes siguientes:

Mezcla 1:

- detergente: 5g;
- hexametáfosfato de sodio: 10g;
- HCl: 50–80 g;
- H₂O: hasta 1 litro.

Mezcla 2:

- detergente: 3g;
- HCl: 35–100 ml;
- H₂O: hasta 1 litro.

Prepare las sustancias anteriores en un recipiente apropiado, sumerja los envases y frote con un cepillo por espacio de uno a tres minutos. Extraiga los envases y enjuáguelos con agua destilada y séquelos. Analice el fondo radiactivo de los envases con el sistema espectrométrico. Si no están limpios, repita los pasos relacionados con la limpieza. Guarde los envases limpios en un lugar apropiado; súmístrelos al técnico responsable del pretratamiento cuando los necesite.

III.4.11. Metodología para el cálculo del área del fotopico y estimación del tiempo de medición.

Cálculo del área o número de conteos en el fotopico

Este cálculo es manual, se conoce la distribución de los conteos por canales, todo pico posee tres características básicas: la Integral (N_t), el Pedestal o Back (N_b) y el Area o Conteos Netos (N). Estas magnitudes se determinan con las 3 ecuaciones siguientes:

$$N = N_t - N_b \qquad N_t = \sum_{i=a_2}^{b_1} N_i \qquad N_b = \left(\sum_{i=a_1}^{a_2-1} N_i + \sum_{i=b_1+1}^{b_2} N_i \right) \frac{b_1 - a_2 + 1}{a_2 - a_1 + b_2 - b_1}$$

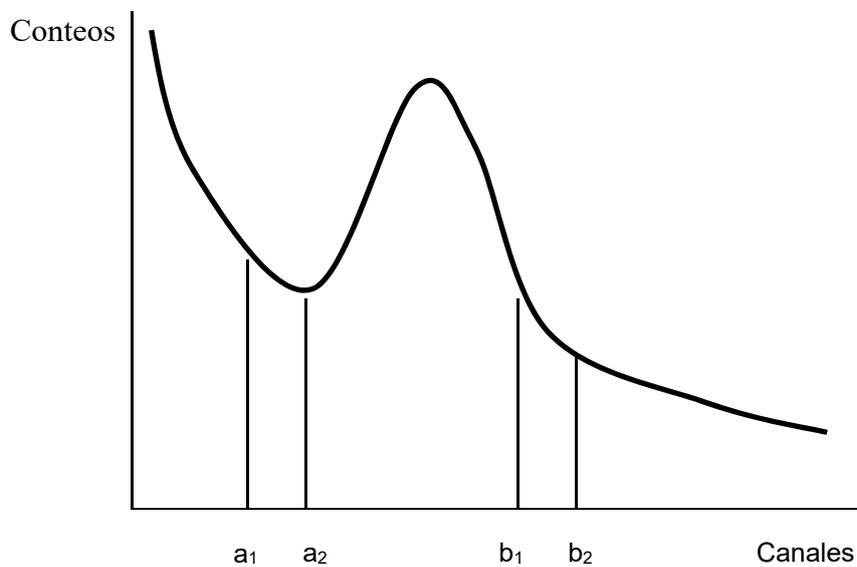
donde:

N_i conteos en el canal i ;
 a_1, a_2, b_1, b_2 números de los canales respectivos o valores de energía asociados.

Incertidumbres en el cálculo del área del fotopico

Aplicando la Ley para la Propagación de Incertidumbres en la expresión para el cálculo del Área, se determina la incertidumbre según:

$$u(N) = \left[N_t + N_b \frac{b_1 - a_1 + 1}{a_2 - a_1 + b_2 - b_1} \right]^{1/2}$$



Utilizando un factor de cobertura de 1.645, correspondiente al nivel de confianza del 90% en la distribución normal, obtenemos la incertidumbre relativa según:

$$\frac{1.645 u(N)}{N}$$

Esta incertidumbre, expresada en porcentaje, coincide con la reportada por el sistema.

Estimación del tiempo de medición

El tiempo de medición para lograr una incertidumbre relativa establecida a priori en el cálculo de la actividad específica se estima por la siguiente fórmula:

$$T = \frac{R_t}{\left\{ \left(\frac{u(A_e)}{A_e} \right)^2 - \left(\frac{u(\varepsilon)}{\varepsilon} \right)^2 - \sum_{i=1}^n \left(\frac{u(X_i)}{X_i} \right)^2 \right\} (R_t - R_b)^2 - u^2(R_b)}$$

donde:

T tiempo de medición;

- R_t tasa de conteo total (muestra más fondo);
 $u(A_e)/A_e$ incertidumbre relativa en el cálculo de la actividad específica; la misma se toma del modelo acompañante;
 $u(\varepsilon)/\varepsilon$ incertidumbre relativa en la determinación de la eficiencia;
 $u(X_i)/X_i$ incertidumbres relativas de la n magnitudes características de la muestra y el proceso de muestreo;
 R_b tasa de conteo del fondo;
 $u(R_b)$ incertidumbre de la tasa de conteo del fondo.

III.4.12. Fórmulas para el cálculo de la actividad específica según el tipo de muestra

En todos los casos se parte de la actividad absoluta o simplemente actividad(A) expresada en Becquerels.

Para determinaciones en suelos, sedimentos, arenas, substratos

Se mide en peso ceniza, se reporta en peso seco según la fórmula

$$A_e = \frac{1000 PC}{m PI} A$$

donde:

- m peso ceniza de la muestra medida(g);
 PI peso seco a incinerar(g);
 PC peso ceniza correspondiente a PI (g);
 A_e actividad Específica(Bq/kg de peso seco).

Se mide en peso seco, se reporta en peso seco: se toman PC y PI iguales a 1 en la fórmula anterior.

Para determinaciones en alimentos y pastos

Se mide en peso ceniza, se reporta en peso fresco según la fórmula:

$$A_e = \frac{1000 PS PC}{m PH PI} A$$

donde:

- m peso ceniza de la muestra medida(g);
 PH peso húmedo o fresco(g);
 PS peso seco (g);
 PI peso seco a incinerar(g);
 PC peso ceniza correspondiente a PI (g);
 A_e actividad Específica (Bq/kg de peso fresco).

Se mide en peso seco, se reporta en peso fresco;

$$A_e = \frac{1000 PS}{m PH} A$$

donde m es el peso seco medido(g).

Se mide en peso húmedo o fresco, se reporta en peso fresco:

$$A_e = \frac{1000}{m} A$$

donde m es el peso húmedo o fresco(g).

Para determinaciones en Aerosoles

$$A_e = \frac{M}{m V_f} A$$

donde:

- m peso ceniza de la muestra medida(g);
- M peso ceniza total de la muestra incinerada(g);
- V_f volumen de aire filtrado (m³);
- A_e actividad Específica (Bq m⁻³).

Para determinaciones en las Precipitaciones Atmosféricas

$$A_e = \frac{M 30}{m T_e S} A$$

donde:

- m peso ceniza de la muestra medida(g);
- M peso ceniza total de la muestra incinerada(g);
- S area de la bandeja(m²);
- T_e tiempo de exposición(d);
- A_e actividad Específica(Bq m⁻² mes⁻¹).

III.5. PREPARACIÓN DE MUESTRAS PARA ANÁLISIS DE TAMAÑO DE GRANO

III.5.1. Objeto

Acondicionamiento de las muestras de sedimento marino en estado seco para realizar análisis granulométrico por el método de difracción de rayo láser.

III.5.2. Ámbito de aplicación

Este procedimiento puede ser utilizado para preparar las muestras de sedimento del proyecto RLA7012, que han sido secadas a 45 °C, para realizar análisis granulométricos.

III.5.3. Documentación de referencia

Procedimiento estándar para la preparación de las muestras para el análisis granulométrico.

III.5.4. Descripción

Este procedimiento describe y regula los pasos a seguir para el tratamiento de muestras de sedimento marino que han sido secadas a 45°C para realizar el análisis granulométrico.

1. Pesar aproximadamente 0.5 gramos de sedimento seco en un vaso de precipitado limpio y seco, previamente etiquetado y tarado, utilizando una balanza de tres dígitos (0.001 g).
2. Humedecer la muestra con aproximadamente 15 ml de agua a temperatura ambiente.
3. Colocar el vaso en un baño de ultrasonido. Aplicar ultrasonidos en intervalos de 15 minutos por cada hora, durante 5 horas.
4. Dejar reposar la muestra y retirar el agua sobrante con una pipeta Pasteur.

III.6. COMPOSICIÓN ELEMENTAL POR ESPECTROMETRÍA DE FLUORESCENCIA DE RAYOS X (XRF)

Los análisis de componentes mayoritarios y metales pesados son realizados utilizando el sistema de fluorescencia de rayos X Spectrolab 2000, Spectro Analytical Instruments.

- Se colocan 4 g of de sedimento seco y molido en un contenedor de polietileno de baja densidad, con el fondo recubierto con membrana Prolene™. Comprimir cuidadosamente la muestra con la ayuda de una vara de teflón de diámetro similar al contenedor.
- El análisis espectral y los cálculos cuantitativos se realizan utilizando el método calibrado de evaluación interna del software del equipo y desarrollando una combinación de 3 mediciones con diferentes objetivos para los rayos X. Esto permite la determinación de concentraciones totales para elementos con número atómico entre 13 (Al) y 92 (U).
- Se realizan análisis rutinarios de réplicas (n=6) de alícuotas de los materiales de referencia OIEA 158, 405 y 433, los cuales muestran buena concordancia entre los valores analíticos y certificados para la mayoría de los elementos considerados en el certificado, con exactitudes por encima del 90% e incertidumbres por debajo del 8% para la mayoría de los elementos analizados.

III.7. DETERMINACIÓN DE CARBONO TOTAL, NITRÓGENO TOTAL, CARBONO INORGÁNICO TOTAL Y CARBONO ORGÁNICO TOTAL

III.7.1. Carbono total (C_{tot}) y nitrógeno total (N_{tot})

A continuación, se describe el procedimiento de análisis utilizando un analizador elemental LECO TRUSPEC:

- Pesar entre 100 a 150 mg de sedimento seco, molida y homogeneizado, dentro de un contenedor de estaño, en una balanza analítica (precisión de 0.0001 g).
- Cerrar herméticamente el contenedor y colocar en el muestreador automático, desde donde se introduce en el horno de combustión, donde se mantiene de 2 a 3 minutos en varias etapas, en presencia de distintos contenidos de O_2 en la corriente del gas acarreador (perfil de combustión) para asegurar su completa oxidación.
- Los gases generados en todo este tiempo son recogidos en un contenedor de 4.5 litros y una vez mezclados, una alícuota pequeña de los mismos fluye a los detectores donde se determina el CO_2 mediante un detector de infrarrojo y el N_2 , previo paso de los gases por el tubo de reducción de Cu, por el de conductividad térmica.

Para establecer las curvas de calibración, se deberán utilizar patrones certificados, con diferentes contenidos de C y N (que incluya el intervalo de valores de la muestra).

Es importante hacer determinaciones de blancos (habitualmente una cápsula de Sn vacía) y los valores obtenidos deben ser restados de los aquellos obtenidos tanto para los patrones (para la curva de calibración) como en la muestra.

La curva de calibrado del N se ajusta a una calibración lineal de primer grado y la del C se realiza un ajuste cuadrático.

El contenido de C y N de las muestras se recalcula a partir de las nuevas curvas de calibrado obtenidas.

III.7.2. Carbono inorgánico total (TIC)

Esta determinación se realiza utilizando el módulo de Análisis de Muestras Sólidas SSM-5000 (Shimadzu), mediante una pre-acidificación con ácido fosfórico en un horno a 200° C. El CO_2 producido se transporta en corriente de aire y se mide en el analizador de infrarrojos no dispersivo NDIR de alta sensibilidad del TOC-V. Se sigue el procedimiento de análisis descrito en la norma europea UNE-EN 13137:2002. Para la cuantificación se empleó una línea de calibración a partir de $CaCO_3$ ($R^2=0.9991$).

III.7.3. Carbono orgánico total (TOC)

Este valor se calcula por diferencia a partir de los resultados obtenidos de C_{tot} y TIC según la norma UNE reseñada anteriormente.

III.8. CONCENTRACIÓN DE MERCURIO TOTAL EN SEDIMENTOS

III.8.1. Alcance y aplicación

Se describe la metodología para el análisis de mercurio total en muestras de sedimentos y suelos mediante el analizador de mercurio total DMA-80. El rango de trabajo típico del método es de 0.05–600 ng. El vapor de mercurio primero pasa a través de una celda de absorbancia de paso óptico largo y luego a través de otra de paso óptico corto (la relación de longitud entre las celdas es de 10:1). La misma cantidad de mercurio se mide dos veces utilizando dos sensibilidades diferentes.

El límite de detección del instrumento (LDI) para este método es de 0.01 ng de mercurio total, utilizando digestión ácida vía húmeda con una mezcla de ácidos fuertes seguido por la adición de un agente reductor para generar el vapor de mercurio elemental (Hg^0). Mas adelante, el vapor de mercurio elemental es generado a través de combustión directa de la muestra a ser analizada.

Generalmente, el nivel de mercurio en suelo es menos de 0.2 mg/kg de peso seco (ppm). Cuando el nivel de mercurio total en suelo es encontrado que excede pocos mg/kg (ppm), existe un riesgo de que el mercurio migrará del suelo hacia otros sectores ambientales. En estos casos, la contaminación de mercurio en sistemas acuáticos de los alrededores debe ser investigada.

III.8.2. Resumen del método

El método usa calentamiento controlado en un horno de descomposición oxigenado para liberar el mercurio de muestras sólidas o acuosas. La muestra es secada y descompuesta térmica y químicamente dentro del horno de descomposición. Los productos de descomposición son llevados por el flujo de oxígeno a la sección catalítica del horno. Se completa la oxidación y los halógenos y óxidos de azufre / nitrógeno son atrapados en el tubo catalizador. Los productos de descomposición restantes son llevados a un amalgamador que atrapa selectivamente el mercurio. Después el sistema es lavado con flujo de oxígeno para remover cualquier producto de descomposición o gases generados, el amalgamador es entonces calentado rápidamente liberando así el vapor de mercurio. El flujo de oxígeno lleva el vapor de mercurio a través de las celdas de absorbancia colocada en el paso de luz de un espectrofotómetro de absorción atómica de longitud de onda única. La absorbancia (altura o área de pico) es medida a 253.7 nm como una función de la concentración de mercurio.

III.8.3. Interferencias

- Usar reactivos de alta pureza, libres de mercurio para obtener resultados fiables;
- Mas adelante en este mismo procedimiento se describe el método de cuarteo con fin de homogenizar, esto aplicado solo para muestras de suelo, en este caso podría haber pérdidas de mercurio por fricción, así que se recomienda tener mucho cuidado;
- Posible pérdida de mercurio por evaporación al captar la muestra desde el punto de muestreo si no se preserva a bajas temperaturas al instante, más aun cuando se realizan los muestreos cercanos al medio día;
- Los reactivos deben ser revisados previo al análisis, ya que sus propiedades pueden cambiar por el tiempo de almacenamiento;
- Cuando se realiza la curva de calibración, es conveniente identificar los botecitos de cuarzo a fin de evitar una contaminación cruzada;

- Los efectos de memoria entre análisis pueden encontrarse cuando se analizan muestras de alta concentración de mercurio (200 ng) antes de analizar una de baja concentración (25 ng);
- Típicamente para minimizar los efectos de memoria, analizar las muestras en lotes de baja y alta concentración, analizando los de baja concentración primero. Si no es posible dividir las muestras en lotes entonces se podrían analizar blancos con un tiempo de descomposición.

III.8.4. Muestreo y preservación de la muestra

Sedimentos

- Para ríos, los puntos de muestreo permiten una fácil colección de sedimentos escogidos a intervalos de 50–200 m. Corriente abajo desde el punto de descarga del agua residual industrial o drenaje de la ciudad, por otra parte, es deseable que se designen al menos dos puntos corriente arriba para recolectar sedimento como control. Los sitios de recolección para las muestras de sedimentos son usualmente especificados para ambos, orillas y centro del río. Si el río es ancho, incrementar el número de puntos de muestreo;
- Para áreas de lagos, humedales y océanos, centrar radialmente los puntos de muestra sobre el punto de partida o boca del río y llevar un plano de rejilla según sea necesario;
- La toma de muestras en lagos a diferentes niveles de profundidad requiere del empleo de una botella para muestreo (Van Dorn, Malchanov, etc.);
- Usar de preferencia contenedores de vidrio o polietileno debidamente lavados. Almacenar las muestras en un lugar oscuro y frío. Muestras que contengan mercurio metálico o divalente deberán ser almacenadas en un freezer.

Suelo

- Dibuje una malla sobre un mapa del sitio contaminado y dependiendo de la contaminación sospechada o verificada, escoger áreas de muestreo que pueden ir de los 100 m² (10 × 10 m) a 900 m² (30 × 30 m) en sitios donde la contaminación no es tan extrema. Se escogen 5 puntos y se colectan muestras individuales de cada uno de ellos: el punto del centro de cada rejilla y 4 sub-puntos alrededor de él. Aunque las localizaciones de los 4 sub-puntos no son precisamente trazados, es deseable recolectar las 4 muestras en dirección norte, sur, este y oeste del punto central;
- En cada punto de muestreo, recolectar las muestras de suelo entre la superficie del suelo y 50 cm de profundidad. Específicamente recolectar las muestras individuales de dos regiones separadas, una entre la superficie del suelo y a un punto de 5 cm por debajo de ía superficie y la otra en el área desde 5 cm a 50 cm por debajo de la superficie del suelo. Después de recolectar las muestras de suelo remover la basura de cada muestra y homogenizar cada muestra por mezclado con método de cuarteo;
- Después de la homogenización, mezclar un peso igual de cada muestra para obtener una sola muestra de composición final. Similarmente, para el método de mezclado de los 5 sitios mezclar un peso igual de cada una de las muestras (homogenizado con el método de pretratamiento de suelo mencionado anteriormente) para obtener una sola muestra para el análisis de mercurio.

III.8.5. Precauciones de seguridad

- Es necesario usar bata de laboratorio, guantes y anteojos de protección.
- Tener mucho cuidado ya que se trabaja continuamente con H_2SO_4 , HNO_3 , HCl y HClO_4 también con la manipulación de KMnO_4 puesto que mancha por su efecto oxidante, si esto ocurriera enjuagar con una solución de Hidroxilamina previamente preparada y posteriormente con abundante agua del grifo. En caso de exposición de ácidos en la piel, enjuagar con abundante agua del grifo, si es ingerido buscar atención médica pertinente, en caso de exposición de los vapores apartarse completamente del lugar de exposición y buscar un lugar ambientado con aire fresco.
- Tener sumo cuidado cuando se manipulen las muestras ya que pueden provenir de posibles sitios contaminados de alta concentración, asimismo con los Materiales de Referencia Certificados (CRM por sus siglas en inglés). En caso de exposición en la piel enjuagar con abundante agua del grifo, si es ingerido buscar atención médica pertinente.
- Almacenar los desechos tanto de reactivos como muestras y otros en recipientes de desechos rotulados para tal fin, tener cuidado en no mezclar los desechos. No desechar en el desagüe del grifo. Al hacer esto utilizar bata de laboratorio, guantes de látex, anteojos de seguridad y mascarilla.
- Deje siempre limpio su puesto de trabajo. Asegúrese de guardar todos los reactivos que haya utilizado en el análisis.

III.8.6. Reactivos

- HNO_3 libre de mercurio para análisis de trazas;
- caolín libre de mercurio;
- sílice libre de mercurio;
- HCl libre de mercurio para análisis de trazas.

III.8.7. Instrumental y materiales

- Analizador Directo de Mercurio total DMA-80 (Milestone);
- botes de Cuarzo;
- botes de Níquel;
- mufla con rango de Temperatura de 150 a 1000 °C;
- matraces Volumétricos aforados: 10, 100 y 1000 ml;
- pipetas Serológicas y Volumétricas clase A de: 0.2, 0.5, 1.5 y 10 ml;
- balanza analítica Metler AE 160 con precisión de 0.001 mg;
- viales de 20 ml de capacidad;
- guantes de Látex;
- oxígeno de alta pureza 99%;
- pipetas automáticas de 20 a 1000 μL ;
- morteros de ágata;
- bandejas plásticas o metálicas para cuarteo de muestras;
- microespatulas;
- peras de seguridad;
- pizetas;
- Papel toalla.

Todo el material de vidrio deberá estar lavado según el procedimiento pertinente.

III.8.8. Homogenización de la muestra

Para el caso de las muestras de suelo, se debe aplicar el método del cuarteo, mencionado anteriormente, pero primero se debe hacer pasar la muestra de suelo por un cedazo de malla para hacerla apta para el análisis. Debido a que las muestras son tomadas en forma de rejilla, hablando de un total de 5 muestras por sitio correspondiente a un punto central y la de los cuatro puntos cardinales, éstas tendrán que ser homogenizadas y luego mezcladas para obtener una única muestra final representativa de ese sitio, y esto se hace por medio del método en mención.

- a. Se comienza homogenizando cada una de las muestras individualmente por el método mencionado, que consiste en colocar la muestra en una bandeja plástica de 25×40 cm aproximadamente y moler la muestra con un mortero o una espátula hasta obtener una consistencia fina.
- b. Una vez obtenida dicha consistencia se esparce la muestra sobre todo el área de la bandeja de una forma homogénea y se divide en cruz por en medio de la bandeja con espátula para obtener cuatro partes casi iguales las que se mezclaran en forma de equis para obtener dos partes casi iguales y por último se mezclan estas dos partes restantes.
- c. Repetir el paso anterior unas 8 a 12 veces.
- d. Luego de haber cuarteado los 5 puntos se mezclan pesos iguales (pueden ser 20–25 gramos) de cada uno de los puntos, y se aplica de nuevo el cuarteo según descrito en punto b.
- e. Para el caso de sedimento, si la muestra tiene un alto contenido de agua, centrifugarlo para remover la capa superior de agua y homogenizarlo bien antes de someterlo a análisis.

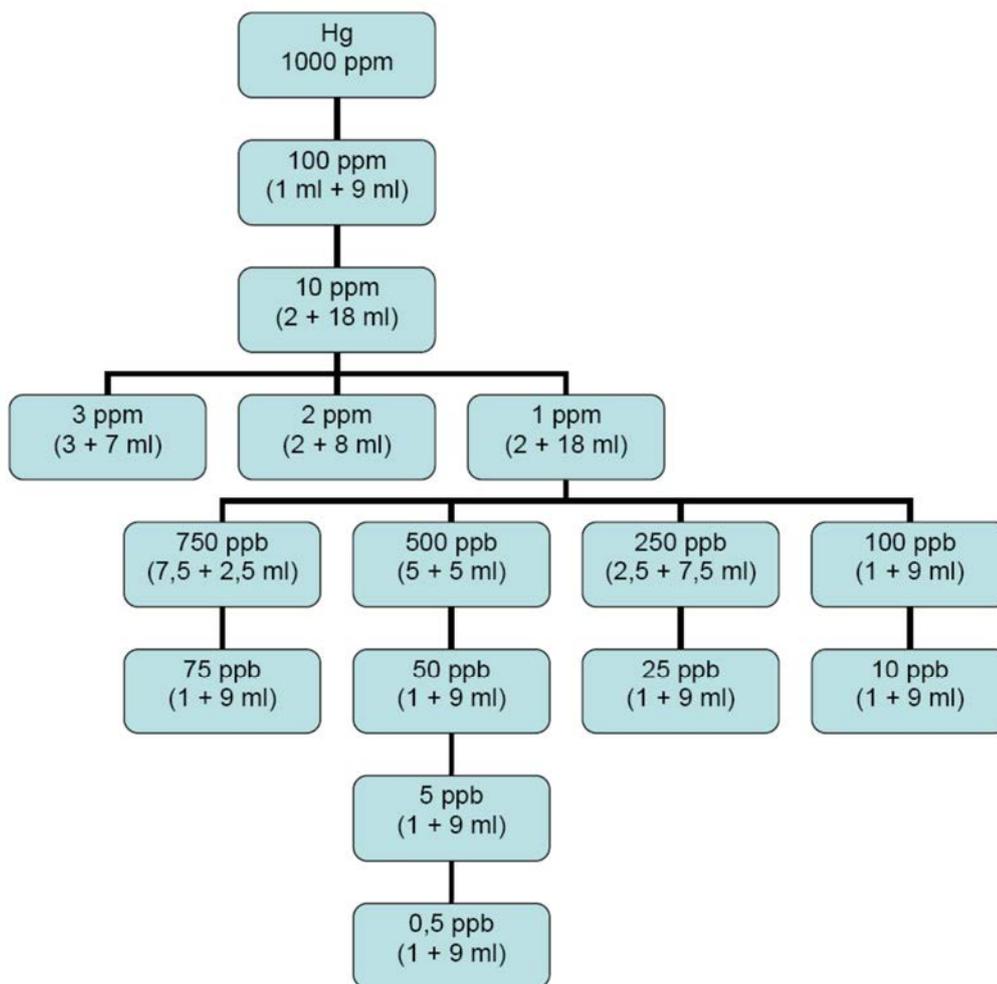
III.8.9. Calibración del método

El equipo debe encontrarse en condiciones tales que los valores de línea base sean lo mas bajos posibles. $Abs (Height) < 0.005$. Esto se logra alternando botes de cuarzo conteniendo HNO_3 5% (recién preparado) con botecitos vacíos hasta asegurar un valor apropiado de la línea base.

Antes de empezar a calibrar, la lámpara de Hg. debe de estar en unas condiciones óptimas de estabilidad, para ello es conveniente encender el equipo a primera hora de la mañana y dejar que la lámpara se caliente al menos durante unas 2 horas.

Preparar los estándares el mismo día de la calibración. Estos han de ser preparados por diluciones sucesivas a partir de una disolución estándar certificada de 1000 mg/L de Hg. Como disolvente se empleará el blanco de HNO_3 5% v/v, a no ser que se requiera otro para alguna aplicación específica. El orden normal de dilución con los volúmenes relativos será el indicado en la figura siguiente.

Es importante que las pipetas utilizadas en la preparación de los patrones se encuentren apropiadamente calibradas. Se recomienda preparar los patrones en viales desechables de polietileno (o de otro material apropiado) de 25 ml.



Inicio de la calibración:

- Medir blancos sucesivos hasta obtener valores de fondo apropiados ($Abs < 0.005$);
- Medir al menos 3 replicas de cada estándar;
- Asignar a la medida de la señal de que son estándares de calibración (símbolo el Calibrador) en el software, tras lo cual escribir en la pestaña RESULT el valor de la concentración del patrón. Además, introducir el peso de la muestra gramos tomando;

$$\text{Disolución } 1\text{g/ml} \rightarrow \text{Vol. (ml)} = \text{Peso (g)}$$

- Observar la dispersión de los resultados tras las medidas de las replicas. Si hay uno o varias replicas que se alejan entre si, añadir una cuarta o quinta replica a fin de estimar el valor medio de Absorbancia para el estándar medido;
- Aceptar o rechazar medidas en función de la dispersión de los resultados;
- Ajustar el método de ajuste de la curva. En general será un ajuste cuadrático;
- Grabar cada una de las medidas en la curva asignada;
- Al terminar todas las replicas de los estándares de una de las curvas (baja o alta concentración) establecer el criterio de aceptación de resultados, estimando si es conveniente repetir algún estándar, en función de la proporcionalidad de las absorbancias de las mismas;
- NUNCA ACEPTAR UNA CURVA CON $R^2 < 0.99$;

- En el caso de que la calibración se prolongue más de un día, en el segundo día, limpiar de nuevo los botes y volver a calibrar desde el punto donde se dejó en las mismas condiciones de estabilidad de la lámpara. También es necesario volver a preparar los estándares a procesar ese día.

III.8.10. Procedimiento del análisis

- Para comenzar el análisis, primero asegúrese que la curva de calibración este cargada. Active la hoja "DMA-80 Calibration" y escoja la curva que utilizará;
- Regrese a la opción "Methods";
- Use un método pregrabado o cree uno nuevo. En la línea "Method Name" asígnele un nombre al método. Cambie los parámetros del método si es necesario y grábelos;
- En la opción "Program" cambie los parámetros de trabajo del instrumento para cada muestra, tales como secado, descomposición y tiempo de espera, si es necesario. El tiempo de secado varía con el volumen de la muestra o con el porcentaje de agua en la muestra y tienen que ser calculado usando una de las siguientes ecuaciones:

$$\text{Tiempo de secado (seg)} = \text{Volumen de muestra } (\mu\text{L}) \times 0.6$$

$$\text{Tiempo de secado (seg)} = \text{Peso de muestra (mg)} \times 0.6 \times \% \text{ H}_2\text{O};$$

- Para muestras inorgánicas secas: Tiempo de secado = 10 Segundos;
- Para muestras con alto contenido orgánico: Tiempo de secado 30 a 90 seg;
- Temperatura de secado = 200 °C para la mayoría de las muestras. (Reduzca el tiempo de secado si está trabajando muestras inflamables). Ver notas de aplicación;
- Tiempo de descomposición es 3 min para la mayoría de las muestras;
- Incrementar el tiempo de descomposición si el resultado del análisis es alto en RSD (>5%).
- Añada 30 segundos y analice las muestras determinando la RSD de nuevo;
- Por ejemplo, el carbón requiere 300 sec (Para otras vea el libro de aplicación de este manual).
- Temperatura de descomposición = 650°C para la mayoría de las muestras (Vea también las notas de aplicación). Tiempo de purga es 60 segundos para la mayoría de las muestras;
- Después de que todas las muestras han sido cargadas en la bandeja (en el caso de modo automático) y los datos son introducidos en el "DMA-80 Measurement", abra la opción de resultados del "DMA-80 Measurement /Data" y presione Start;
- A medida que la muestra es analizada, comenzará a aparecer en la opción "Result" la absorbancia bajo la columna "Height", la cantidad de Hg. en la muestra en la columna "Hg (ng)", y la concentración de Hg. en la "C (μg/kg)";
- Una vez que el equipo está en condiciones de operación pesar por triplicado la cantidad de muestra adecuada. El peso de muestra se decide en función del rango de concentración, cuanto mayor sea la concentración mayor el efecto de memoria;
- Para suelos y sedimentos comenzar con 10 mg, si la señal de absorbancia es muy baja y la reproducibilidad baja incrementar a 25 mg, si es idéntica a la anterior entonces probar de 50 a 100 mg;
- Todas las réplicas deben de ser pesadas por el mismo operador, Tratando de que la muestra quede extendida en todo el botecito sin terminar de extenderla con la espátula. Si al pesar el peso no es exacto, no extraer muestra sino anotar la cantidad pesada;
- Seleccione en el software del equipo el método que se va a aplicar a las muestras o cree un nuevo método;

- Cree un nuevo archivo de muestras para grabar los datos de las muestras que se van a leer. Seleccione entre modo sencillo o automático;
- Chequee si el archivo de calibración es el correcto ya que el equipo carga automáticamente el archivo que uso la última vez;
- Corra algunos blancos para asegurarse que el sistema esta limpio;
- Chequee la curva de calibración midiendo un estándar o una muestra de referencia certificada.
- Mida las muestras por triplicado.

III.8.11. Rampa de temperatura / tiempo

Tiempo para elevación de temperatura al inicio: Unos 30 segundos

Para muestras sólidas (sedimentos):

PRUEBA No	RAMPA	PLATEAU
1	30 s	30 s
2	30 s	90 s
3	30 s	120 s

Criterio de Aceptación:

- Si $1a=3a \rightarrow$ Aceptar 1a
- Si $1a < 2a = 3a \rightarrow$ Aceptar 2a

III.8.12. Tiempo y temperatura de combustión

- Cuanto mayor el tiempo, mayor es la seguridad de que todo el Hg ha sido atomizado, pero mas elementos diferentes pueden acompañar al Hg con el consecuente deterioro del catalizador y la amalgama;
- Temperatura por defecto: 650 °C;
- En principio es adecuada para sedimentos y otras matrices excepto aquellas con un porcentaje muy elevado de Hg asociado a silicatos. En estas matrices elevar la temperatura de combustión,
- Si no se puede atomizar todo el Hg porque queda parte ocluido en silicatos, entonces hay que efectuar una digestión húmeda de la muestra con HF, luego proceder a la eliminación de HF con H_3BO_3 o $HClO_4$ (No recomendable);
- En general el tiempo de descomposición suele ser 1 minuto superior al tiempo de secado (rampa + Plateau):
 - Rampa: 1 minuto
 - Plateau: Tiempo Total - 1 minuto.
 - Para muestras sólidas; Tiempo de secado + 1 minuto
- A la hora de medir una muestra con muy baja concentración podemos utilizar la opción de preconcentración que nos permite el software símbolo }+;
- En un archivo de análisis se introducen tantas réplicas como se vaya a preconcentrar (en el caso de líquidos no es recomendable superar 4 réplicas debido a posibles pérdidas de Hg.). Ésta se señala con el símbolo }+ y a continuación la primera y última réplica que se vaya a preconcentrar. De esta manera todas las réplicas serán preconcentradas en la amalgama sin realizarse el paso de desorción térmica de la misma (a 900 °C) hasta la última réplica. El resultado será un valor medio de todas las réplicas introducidas;

- Siempre en la aplicación es conveniente comparar los resultados con el valor de un material de referencia. Como muestra de referencia o control puede emplearse una muestra propia suficientemente contrastada y homogenizada. Es recomendable que las muestras sean almacenadas en frío a fin de preservar su contenido de Hg. (e.g. el Hg. es bastante volátil y puede dar lugar a pérdidas por su tapón);
- Comenzar la lectura de las muestras.

III.8.13. Cálculo y expresión de los resultados

- Los cálculos son expresados automáticamente en el registrador del equipo;
- Cerciorarse siempre de imprimir una hoja de resultados para archivo y hacer un respaldo electrónico en la carpeta. Resultado de Análisis de Mercurio Total DMA-80 en la computadora ubicada en la oficina del Laboratorio de Mercurio Ambiental.

III.8.14. Control de la exactitud

- Para comprobar la exactitud del análisis se debe analizar una muestra de algún material de referencia certificado acorde con la matriz de las muestras analizadas, siguiendo lo indicado en la "Sección de procedimientos". Comparar el resultado con su valor de referencia y límites de aceptación. Cuando éste no se encuentre dentro del rango de los límites, revisar el procedimiento y repetir el análisis;
- En cada grupo de muestras analizadas medir uno o dos estándares comprendidos entre el rango de resultados obtenidos en las muestras analizadas.

III.8.15. Control de la precisión

Las muestras siempre se analizan en lotes de al menos 5 replicas y los resultados son aceptados cuando el coeficiente de variación sea menor del 10%. Si no se logra obtener estos porcentajes se recomienda repetir el análisis.

III.8.16. Porcentaje de recobro

Realice un análisis de una muestra con agregado (*Muestra con agr.*) de acuerdo a la concentración obtenida de las muestras analizadas.

III.8.17. Estándar de control

Verifique la curva de calibración corriendo dos estándares intermedios en cada sesión de trabajo.

III.9 CONTAMINANTES ORGÁNICOS EN SEDIMENTOS

III.9.1. Introducción

El método descrito a continuación está basado en [1]. La determinación de contaminantes orgánicos, tales como hidrocarburos alifáticos, aromáticos policíclicos y totales, y plaguicidas clorados, en muestras de sedimentos requiere la extracción previa y aislamiento de estos contaminantes de la matriz (Fig. 1). Para ello, una porción de la muestra de sedimento es secada a baja temperatura (idealmente <25 °C), justo hasta sequedad (alternativamente, la muestra puede ser liofilizada o mezclada en húmedo con sulfato de sodio anhidro) y extraída con disolventes apropiados utilizando un aparato Soxhlet. El extracto es luego concentrado y purificado por cromatografía en columna antes de su análisis instrumental. Muestras de control de calidad son procesadas, con cada lote de muestras, de manera idéntica a las muestras auténticas.

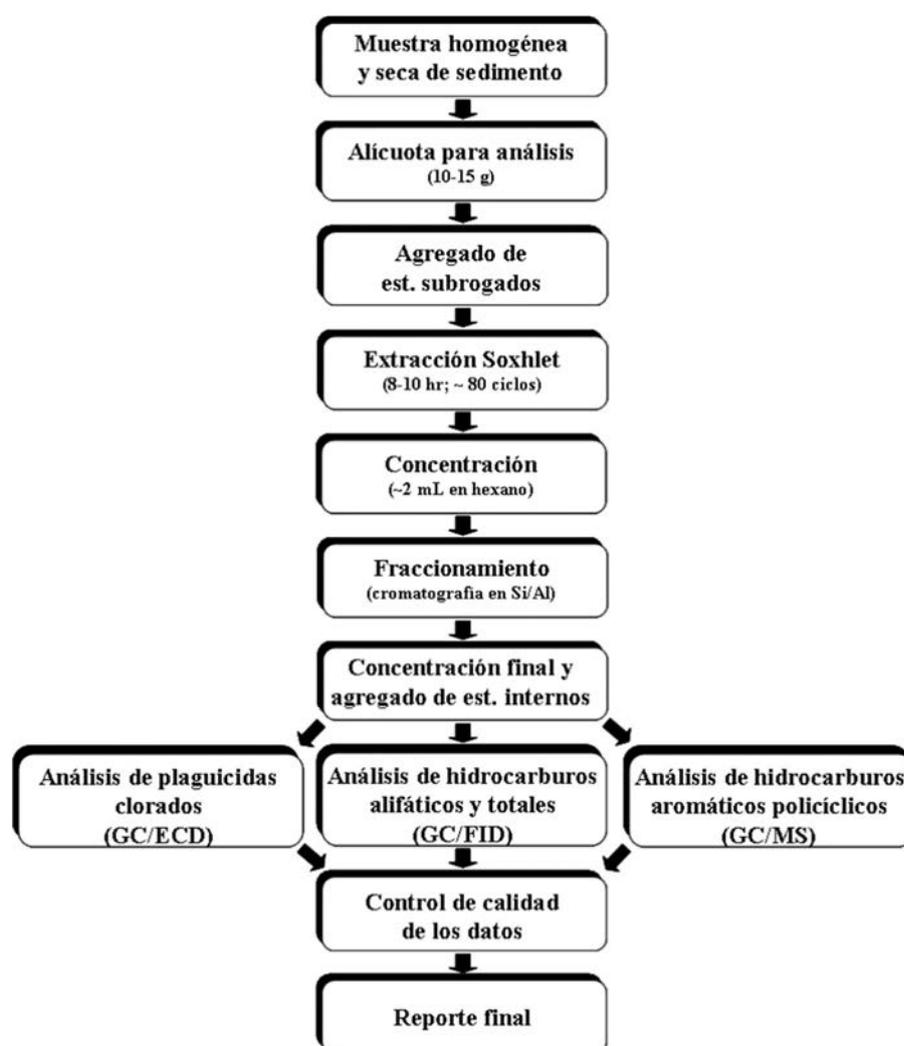


FIG. 1. Diagrama de flujo del análisis de plaguicidas clorados, hidrocarburos alifáticos y totales e hidrocarburos aromáticos policíclicos en muestras de sedimento.

III.9.2. Tratamiento previo de la muestra, preservación y almacenamiento

La muestra de sedimento recolectada debe colocarse en recipientes de vidrio libres de contaminantes orgánicos (ver Sección III.9.3.1). Idealmente, se recomienda congelar de inmediato, o mantener la muestra en hielo hasta su arribo al laboratorio; una vez ahí, almacenar a -20°C , en su recipiente original, hasta ser sometida al proceso de secado. Los extractos de las muestras se mantienen a 4°C hasta su análisis instrumental y después, deben ser almacenados en oscuridad a -20°C .

III.9.3. Extracción y purificación

III.9.3.1. Materiales de laboratorio

Todo material de vidrio de laboratorio debe ser lavado con agua y jabón/detergente de laboratorio, secado con acetona y secuencialmente enjuagado una vez con acetona, dos con hexano, y dos con diclorometano; estos últimos enjuagues con disolventes calidad plaguicidas. Alternativamente, el material no volumétrico, se puede dejar secar destapado y una vez seco, tapar con papel de aluminio y quemar en mufla a 440°C por 4 horas. Dejar enfriar y guardar en un lugar protegido, sin remover el papel de aluminio hasta el momento de su utilización.

Materiales de laboratorio necesarios para el análisis de contaminantes orgánicos en sedimentos:

- Balanza analítica con capacidad de pesar 0,0001 mg;
- balanza analítica con capacidad de pesar 0,1 g;
- balones de fondo plano (o redondo) de 250 y 500 mL;
- baño de agua con calentamiento regulado a $60\text{--}70^{\circ}\text{C}$;
- cartuchos de celulosa o cerámicos previamente extraídos en aparato Soxhlet;
- cilindros graduados, 250 y 1000 mL de capacidad;
- columnas cromatográficas de 300 mm de longitud \times 13 mm de diámetro interno con reservorio superior de 250 mL y llave de teflón;
- columnas de concentración tipo Snyder de tres bolas;
- desecador;
- embudos, diferentes tamaños de vidrio borosilicato;
- espátulas de acero inoxidable;
- estufa con circulación de aire regulado a $63\text{--}65^{\circ}\text{C}$;
- extractores Soxhlet;
- gas nitrógeno para evaporación;
- lana de vidrio calcinada a 440°C por 4 horas o previamente extraída con disolventes;
- micro pipeta de 100 μL ;
- núcleos de ebullición, de vidrio o teflón, previamente lavados con disolventes;
- papel de aluminio calcinado;
- pinzas;
- pipetas Pasteur descartables de 1 mL y bulbos de goma;
- tijeras;
- tubos concentradores tipo Kuderna–Danish de 25 mL, graduados y con tapones esmerilados de vidrio;
- varilla de vidrio de 50 cm;
- vasos de precipitados de 10 mL para la determinación de peso seco;
- vasos de precipitados de 50, 250 y 500 mL;
- viales de vidrio oscuro de 1 y 7 mL con tapa protegida con película de teflón.

Todo material volumétrico para medidas de la muestra o agregado de estándares y disoluciones de enriquecimiento debe ser previamente calibrado.

III.9.3.2. Reactivos

- Acetona, calidad plaguicidas o equivalente;
- ácido clorhídrico, grado reactivo 12 N;
- agua libre de contaminantes orgánicos;
- alúmina, Básica Brockmann I, grado cromatográfico, ~150 mesh o equivalente, activada a 440°C por 4 horas y mantenida en estufa a 120°C. Para utilizar, se deja enfriar a temperatura ambiente en desecador;
- arena lavada y calcinada a 440°C por 4 horas;
- cobre metálico, grado analítico, 20–30 mesh;
- diclorometano, calidad plaguicidas o equivalente;
- hexano, calidad plaguicidas o equivalente;
- pentano, calidad plaguicidas o equivalente;
- sílica, Grado 923, 100–200 mesh o equivalente, activada en estufa a 170°C por 24 horas antes de utilizar; dejar enfriar a temperatura ambiente al usar;
- disolución de enriquecimiento;
- disolución de estándares internos;
- disolución de estándares de recuperación;
- sulfato de sodio (Na₂SO₄), granular anhidro, calcinado a 440°C por 4 horas y mantenido en estufa a 120°C. Para utilizar, se deja enfriar a temperatura ambiente en desecador.

III.9.3.3. Determinación de peso seco (porcentaje de humedad)

Una alícuota de aproximadamente 1 g de muestra de sedimentos perfectamente homogenizada es pesada en un vaso de precipitados, previamente tarado, de 10 mL. Después de secada en estufa con circulación de aire a 63–65°C por 24 horas, la alícuota es pesada y regresada a la estufa por 2 horas antes de una segunda pesada. Si la diferencia entre las dos pesadas es menor o igual a 0,02 g, la segunda lectura es utilizada para calcular el porcentaje de peso seco de la muestra. Si la diferencia es mayor a 0,02 g, se regresa la muestra a la estufa y se vuelve a pesar después de 2 horas y así sucesivamente hasta obtener una diferencia de peso menor a 0,02 g.

Determinación de peso seco (porcentaje de humedad) — Paso a paso

- Calibre la balanza antes de su uso de acuerdo a las instrucciones del fabricante e indicaciones del cuaderno de calibración del laboratorio. Registre la fecha de calibración, pesa utilizada e iniciales del operador.
- Tare la balanza vacía hasta que el indicador de peso lea “0,000 g”.
- Coloque un vial o vaso de precipitados de 10 mL y registre el peso del mismo (“Peso del Vial”).
- Revuelva cuidadosamente, con una espátula de acero inoxidable previamente lavada con disolventes, la muestra ya homogenizada de sedimento y pese, sin volver a tarar la balanza, aproximadamente 1 g de muestra dentro del vial (“Vial+Muestra húmeda”).
- Prepare las muestras destinadas al control de calidad (blanco, muestra duplicada, muestra enriquecida y material de referencia) de la misma manera que las demás muestras. En el caso del blanco, el “Peso del Vial” y “Vial+Muestra húmeda” serán iguales.
- Registre cualquier característica de las muestras que le llame la atención mientras trabaja (e.g. olor, color, trozos de vegetación, conchas, etc.). Todo componente extraño (e.g. trozos de vegetación, conchas, organismos) no deberían incluirse en la muestra a secar.
- Una vez finalizadas todas las muestras, coloque los viales con las muestras húmedas dentro de una bandeja de laboratorio y coloque en estufa con circulación de aire a 63–65°C por 24 horas.

- Pasadas las 24 horas, retire con cuidado y protección adecuada, la bandeja de la estufa y coloque en desecador. Permita que los viales se equilibren con la temperatura del laboratorio por 30 minutos.
- Calibre la balanza antes de su uso de acuerdo a las instrucciones del fabricante e indicaciones del cuaderno de calibración del laboratorio. Registre la fecha de calibración, pesa utilizada e iniciales del operador.
- Tare la balanza vacía hasta que el indicador de peso lea “0,000 g”.
- Coloque uno de los viales y registre el peso del mismo (“Vial+Muestra seca #1”).
- Finalizados todos los viales, regrese la bandeja a la estufa a 63–65°C por 2 horas.
- Después de las 2 horas, retire la bandeja de la estufa con cuidado y protección adecuada la bandeja de la estufa y coloque en desecador. Permita que los viales se equilibren con la temperatura del laboratorio por 30 minutos.
- Calibre la balanza antes de su uso de acuerdo a las instrucciones del fabricante e indicaciones del cuaderno de calibración del laboratorio. Registre la fecha de calibración, pesa utilizada e iniciales del operador.
- Tare la balanza vacía hasta que el indicador de peso lea “0,000 g”.
- Coloque uno de los viales y registre el peso del mismo (“Vial+Muestra seca #2”).
- Si la diferencia entre las dos últimas lecturas es menor o igual a 0,02 g, calcule el porcentaje de peso seco utilizando la segunda lectura.
- Si la diferencia es mayor a 0,02 g regrese la muestra a la estufa por 2 horas y repita el pesado como se indicó.
- Determine la Diferencia Porcentual Relativa (DPR) entre los pesos secos calculados para la muestra original y muestra duplicada. La DPR debería estar entre los rangos especificados por el laboratorio como aceptables, generalmente ±25%. Si la DPR es mayor a ±25% vuelva a pesar ambas muestras para corroborar los pesos y/o revise los cálculos. Si después de recalcular los pesos secos, la DPR continua siendo mayor a ±25% es posible que la muestra no este homogenizada correctamente. Notifique a su supervisor antes de proseguir.
- Para el blanco, la diferencia absoluta de los pesos del vial antes y después del secado debería ser igual o menor a 0,02 g.

Cálculos

$$\% \text{ Peso Seco} = \left(\frac{(\text{Vial} + \text{Muestra Seca}) - (\text{Peso del Vial})}{(\text{Vial} + \text{Muestra húmeda}) - (\text{Peso del Vial})} \right) * 100$$

$$\text{DiferenciaPorcentualRelativa} = \left[\frac{\% \text{ Peso Seco Muestra Original} - \% \text{ Peso Seco Muestra Duplicada}}{\left(\frac{\% \text{ Peso Seco Muestra Original} + \% \text{ Peso Seco Muestra Duplicada}}{2} \right)} \right] * 100$$

III.9.3.4. Extracción de la muestra

Una cantidad pesada de muestra seca y perfectamente homogénea es transferida a un cartucho de celulosa o cerámico y éste es colocado en el extractor Soxhlet. Note que es importante que todo componente extraño al sedimento (e.g. trozos de vegetación, conchas, organismos) no sean incluidos en la muestra a extraer. Trecientos mL de diclorometano y 3–5 núcleos de ebullición son agregados a un balón de 500 mL. El extractor es unido al balón y el cartucho, con muestra en su interior, es humedecido con unos 50 mL de diclorometano.

Una vez armado el extractor Soxhlet, cada muestra y muestras correspondientes al control de calidad son sembradas con los estándares de recuperación correspondientes y, aquellas seleccionadas a ser enriquecidas, con la disolución conocida de analitos. El extractor Soxhlet es colocado sobre una fuente de calentamiento con un ciclo de extracción cada 5–6 minutos (e.g. 10–12 ciclos por hora) por un mínimo de 8 horas u 80 ciclos.

Terminada la extracción, se adosa una columna tipo Snyder de tres bolas al balón de 500 mL y el extracto es concentrado a 10–15 mL sobre baño de agua a 60–65°C.

Alternativamente, la concentración del extracto puede realizarse en rotoevaporador cuidando de que la temperatura del baño de agua no sobrepase los 35°C y evitando la contaminación cruzada entre muestras. Si el extracto contiene algo de la muestra que ha pasado o material particulado, éste debe ser filtrado utilizando un embudo de vidrio que contenga sulfato de sodio sobre un tapón de lana de vidrio calcinada antes de su concentración. El extracto concentrado a 10–15 mL es transferido a un tubo de concentración de 25 mL. El balón de 500 mL es enjuagado 2 ó 3 veces con diclorometano y los enjuagues transferidos al tubo de concentración. Se agrega un núcleo de ebullición, el extracto es concentrado y el disolvente cambiado por hexano (por el agregado sucesivo de pequeñas porciones de hexano) sobre baño de agua a 60–65°C bajo una suave corriente de nitrógeno. Volumen final del extracto antes de la limpieza en columna de cromatografía debe ser de aproximadamente 2 ml en hexano.

Extracción de la muestra – Paso a paso

- Pese con exactitud a la segunda cifra decimal, la cantidad de sedimento a extraer. Es importante que no incluya en la pesada componentes extraños al sedimento (e.g. trozos de vegetación, conchas, organismos).
- Agregue 300 mL de diclorometano a un balón identificado claramente con el código propio de la muestra y batería analítica, agregue 5–6 núcleos de ebullición y conecte el extractor Soxhlet al balón.
- Con una espátula, previamente lavada con diclorometano, transfiera la muestra seca a un cartucho de extracción, de celulosa o cerámico, previamente extraído con diclorometano por 8 horas a 10–12 ciclos por hora. Con una pinza enjuagada con diclorometano acomode el cartucho dentro del extractor Soxhlet y agregue 50 mL de diclorometano para humedecer la muestra con cuidado de no empujarla fuera del cartucho.
- Adicione los estándares de recuperación a todas las muestras, incluyendo las muestras destinadas al control de calidad, y adicione las disoluciones de analitos de interés a las muestras destinadas a ser enriquecidas.

Disolución de estándares de recuperación e internos

Las disoluciones de estándares de recuperación e internos se preparan pesando las cantidades apropiadas de los compuestos puros, transferidos cuantitativamente a un matraz volumétrico, y diluyendo con hexano o disolvente similar no clorado. Las disoluciones de estándares de recuperación e internos son de uso individual y deben prepararse y almacenarse como tal. Las disoluciones de estándares de recuperación e internos deben ser preparadas de manera tal que la adición de 0,100 mL a la muestra, antes de su extracción y antes de su análisis instrumental, respectivamente, resulte en concentraciones finales comprendidas entre el nivel más bajo y el más alto de la curva de calibración cuando el volumen final del extracto es ajustado a aproximadamente 1 mL. Todos los analitos de interés presentes en la muestra son cuantificados en base a un estándar de recuperación y la recuperación de este en base a un estándar interno. Por este motivo, si se esperan concentraciones muy altas o muy bajas de los compuestos de interés en las muestras, las cantidades agregadas de estándares de recuperación, internos y los volúmenes finales de los extractos deben ser ajustados convenientemente.

Disolución de enriquecimiento

La disolución de enriquecimiento (o de siembra) contiene todos o una buena selección de los analitos de interés que van a ser utilizados para fortalecer un blanco o muestra enriquecidos. Esta disolución se prepara pesando las cantidades apropiadas de los compuestos puros, transferidos cuantitativamente a un matraz volumétrico, y diluyendo con hexano o disolvente similar no clorado. La disolución de enriquecimiento debe ser preparada de manera tal que la adición de 0,100 mL al blanco o a la muestra, antes de su extracción, resulte en concentraciones finales de analitos que, en el volumen final del extracto de 1 mL, estén comprendidas entre el nivel más bajo y el más alto de la curva de calibración.

- Conecte un condensador al Soxhlet, coloque sobre la fuente de calentamiento y extraiga, como mínimo, durante 8 horas bajo campana. Ajuste la temperatura hasta lograr un ciclo de extracción cada 5–6 minutos ó 10–12 ciclos por hora. Tenga especial cuidado en controlar periódicamente que se produzca el ciclo cuando el disolvente en el extractor Soxhlet está a nivel del sifón y que no esté simplemente rebalsando gota a gota;

- En general, se espera tener un mínimo de 80 ciclos. Si los ciclos son más demorados se puede mantener la extracción por más horas. En esta situación, se debe tener cuidado de tener suficiente volumen de diclorometano en el balón para realizar el ciclo y una reserva para evitar pérdidas por recalentamiento o secado. Agregar disolvente al balón como sea necesario durante la extracción;
- Una vez finalizada la extracción, deje enfriar el extractor Soxhlet hasta que paren los ciclos y retire el condensador;
- Agregue unos 4–5 núcleos de ebullición frescos al balón, conecte una columna de destilación tipo Snyder de tres bolas y coloque el balón en un baño de agua a 60–65°C para concentrar el volumen a 10–15 mL. Alternativamente, el extracto puede ser concentrado en un rotoevaporador cuidando que la temperatura del baño de agua no sobrepase los 35°C. Evite la contaminación cruzada entre muestras;
- Transfiera el volumen a un tubo de concentración de 25 mL y enjuague el balón con pequeñas porciones de diclorometano. Recoja los líquidos de lavado en el mismo tubo de concentración. Agregue un núcleo de ebullición al tubo de concentración y coloque sobre baño de agua a 60–65°C hasta concentrar el extracto a aproximadamente 1 mL en diclorometano bajo una corriente suave de nitrógeno;
- Sin retirar del baño, agregue al tubo de concentración 10 mL de hexano y lleve nuevamente a 1 mL bajo una corriente suave de nitrógeno. Repita este paso tantas veces como sea necesario hasta reemplazar todo el diclorometano por hexano, lo cual se evidencia por la ausencia de ebullición en el líquido.

III.9.3.5. Limpieza con sílica gel/alúmina en columna de cromatografía

La columna de cromatografía se llena con diclorometano, se coloca un tapón de lana de vidrio calcinada en el fondo de la columna para retener el material adsorbente y sobre ella 1 cm de sulfato de sodio anhidro o de arena lavada y calcinada para lograr una superficie uniforme. Diez gramos de alúmina (previamente activada y parcialmente desactivada con 1% de agua, peso en peso) es agregada en seco sobre el diclorometano y dejada decantar dentro de la columna. Veinte gramos de sílica gel (previamente activada y parcialmente desactivada con 5% de agua, peso en peso) es suspendida en diclorometano antes de su agregado a la columna. Una vez que la reacción de la sílica gel con el diclorometano ha terminado (no se observa la formación de burbujas de gas) se agrega la sílica gel sobre la alúmina y se deja decantar. Aproximadamente 2 cm de sulfato de sodio anhidro o de arena lavada y calcinada es agregada al tope de la columna y, sobre ella, 1–2 cm de cobre activado (ver *Limpieza con sílica gel/alúmina en columna de cromatografía – Paso a paso*). En este punto, la columna contiene, en diclorometano y de abajo hacia arriba, 1 tapón de lana de vidrio, 1 cm de arena lavada, 10 gramos de alúmina parcialmente desactivada, 20 gramos de sílica parcialmente desactivada, 2 cm de sulfato de sodio anhidro o de arena lavada y 1–2 cm de cobre activado para la remoción de azufre. Se eluye el diclorometano de la columna hasta alcanzar la superficie superior del cobre activado y se agregan 50 mL de pentano. Se permite que el pentano eluya de la columna y reemplace el diclorometano hasta que alcance el cobre activado. En este punto, la columna está lista para recibir el extracto concentrado de la muestra.

El extracto de la muestra concentrado a 2 ml en hexano es transferido a la columna mediante el uso de una pipeta Pasteur descartable. El agregado es eluído hasta alcanzar la superficie del cobre activado, y el disolvente es recogido en un balón de 250 mL colocado debajo de la columna. El tubo concentrador que contenía la muestra es enjuagado 2–3 veces con pequeñas porciones (~1 mL) de una mezcla de diclorometano:pentano (1:1) y los enjuagues agregados a la columna siguiendo el procedimiento anterior entre agregados. Doscientos mL de la mezcla de diclorometano:pentano se agregan a la columna y son recogidos en el balón de 250 mL a una velocidad de aproximadamente 2 ml por minuto (gota a gota). Esta fracción contiene hidrocarburos alifáticos, aromáticos policíclicos y totales, y plaguicidas clorados.

Limpieza con sílica gel/alúmina en columna de cromatografía – Paso a paso

Preparación de la columna

- Retire el sulfato de sodio, alúmina y sílica gel de la estufa y colóquelos en un desecador para enfriar a temperatura ambiente (ver Extracción y purificación, Materiales de laboratorio, Reactivos);
- Retire la arena lavada y calcinada de la estufa y coloque sobre la mesa para enfriar a temperatura ambiente.

Nota: al retirar materiales de la estufa use siempre guantes de protección o pinzas largas adecuadas para manejar objetos pesados. Los recipientes de arena, sílica y alúmina pueden pesar hasta 1 kg. y están calientes. Asegúrese de que todos los recipientes están cubiertos con papel aluminio.

Preparación de la sílica y alúmina desactivadas

- Calibre la balanza antes de su uso de acuerdo a las instrucciones del fabricante e indicaciones del cuaderno de calibración del laboratorio. Registre la fecha de calibración, pesa utilizada e iniciales del operador;
- Coloque un balón de 1000 mL con boca esmerilada y embudo sobre la balanza y tare el peso hasta que el mismo lea “0,000 g”;
- Agregue alúmina dentro del balón y pese. El peso total de la alúmina debería ser igual a $10 \text{ g} \times n$ muestras. Generalmente se pesa una cantidad extra (i.e. 10–15 g) en caso de accidentes o de necesitar más al construir las columnas. Registre este peso;
- Vuelva a tarar el balón con la alúmina hasta que el mismo lea “0,000 g” y desactive parcialmente el adsorbente con el agregado de 1% (peso en peso) de agua libre de contaminantes orgánicos al balón. Nota: la cantidad de agua es calculada al multiplicar el peso total de alúmina en el balón $\times 0,01$. Por ejemplo, si el peso total de alúmina en el balón es de 171,2 g, se debe agregar $171,2 \text{ g} \times 0,01 = 1,712 \approx 1,7 \text{ g}$ de agua. Es conveniente no agregar toda el agua en el mismo lugar para evitar la formación de grumos;
- Coloque otro balón de 1000 mL con boca esmerilada y embudo sobre la balanza y tare el peso hasta que el mismo lea “0,000 g”;
- Agregue sílica dentro del balón y pese. El peso total de la sílica debería ser igual a $20 \text{ g} \times n$ muestras. Generalmente se pesa una cantidad extra (i.e. 20–25 g) en caso de accidentes o de necesitar más al construir las columnas. Registre este peso;
- Vuelva a tarar el balón con la sílica gel hasta que el mismo lea “0,000 g” y desactive parcialmente el adsorbente con el agregado de 5% (peso en peso) de agua libre de contaminantes orgánicos al balón. Nota: la cantidad de agua es calculada al multiplicar el peso total de alúmina en el balón $\times 0,05$. Por ejemplo, si el peso total de alúmina en el balón es de 363,1 g, se debe agregar $363,1 \text{ g} \times 0,05 = 18,15 \approx 18,2 \text{ g}$ de agua. Es conveniente no agregar toda el agua en el mismo lugar para evitar la formación de grumos;
- Tape los dos balones y agite bruscamente al inicio, para romper grumos que se pudieran haber formados, y más suavemente cada 5–10 minutos por una hora para equilibrar la humedad.

Preparación del cobre activado

Nota: el cobre activado sirve para eliminar el azufre que pueda interferir durante el análisis de los extractos por cromatografía de gases y detector de captura electrónica (plaguicidas clorados).

- Coloque aproximadamente 50 g (para 24 muestras) de cobre metálico en un vaso de precipitados de 250 mL;
- Agregue, bajo campana, y con mucho cuidado, una cantidad de ácido clorhídrico necesaria para cubrir el cobre;
- Agite el cobre con una varilla de vidrio durante unos segundos y deje reposar por 5 minutos;
- Coloque un embudo de vidrio con el vástago tapado con lana de vidrio sobre otro vaso de precipitados de 500 mL y transfiera, cuidadosamente y bajo campana, el cobre con el ácido;
- Lave el cobre activado con abundante agua libre de contaminantes orgánicos hasta remover todo el ácido. La mezcla de ácido y agua de lavado debe ser neutralizada con bicarbonato de sodio y desechada de acuerdo a las normas del laboratorio;

- Enjuague el cobre lavado con 3 ó 4 porciones de 20 mL de metanol seguido de 3 ó 4 porciones de 20 mL de diclorometano y de 3 ó 4 porciones de 20 mL de hexano, desechando los disolventes de acuerdo a las normas del laboratorio;
- Almacene el cobre activado bajo hexano en un vaso de precipitados cubierto y debidamente identificado. Es importante activar el cobre al momento de utilizar ya que con el tiempo pierde efectividad o se desactiva totalmente.

Preparación de la mezcla de diclorometano:pentano (1:1)

- La mezcla de diclorometano:pentano (1:1) es preparada al mezclar cantidades iguales de pentano y diclorometano;
- Mida 2 litros de pentano utilizando un cilindro graduado y vierta en una botella de 4 litros;
- Utilizando el mismo cilindro graduado, mida 2 litros de diclorometano y agréguelos a la botella de 4 litros. Tape la botella y agite vigorosamente para lograr un mezclado completo. Agite nuevamente antes de cada uso. Este volumen es suficiente para aproximadamente 18 muestras.

Preparación de la columna

- Asegure las columnas cromatográficas (30 cm × 13 mm con llave de teflón y reservorio de 250 mL) a sus soportes dentro de la campana. El total de columnas debe ser el mismo que el número de extractos a limpiar;
- Coloque un recipiente de 250 mL bajo la columna para recoger los disolventes de desecho;
- Abra la llave y, utilizando una botella de lavado, enjuague las columnas 3 veces con aproximadamente 10 mL de metanol cada vez seguido de 3 enjuagues con aproximadamente 10 mL de diclorometano cada vez;
- Enjuague los extremos de una pinza y de una tijera con diclorometano y corte una porción de lana de vidrio calcinada suficiente para cubrir el fondo de la columna. Con una varilla de vidrio, enjuagada con diclorometano, empuje la lana de vidrio hacia el fondo de la columna;
- Cierre la llave y llene la porción de la columna cromatográficas con diclorometano;
- Coloque un embudo sobre la columna y agregue un 1 cm de arena lavada dentro de cada columna utilizando una espátula de acero inoxidable enjuagada con diclorometano;
- Coloque un vaso de precipitados de 50 mL sobre una balanza calibrada y tare su peso;
- Pese aproximadamente 10 g ($\pm 0,1$ g) de alúmina parcialmente desactivada por columna;
- Vierta la alúmina en la columna utilizando un embudo. Enjuague el embudo y el interior del reservorio de la columna con pequeñas porciones de diclorometano para asegurarse que toda la alúmina es transferida hacia la columna. Abra brevemente la llave de la columna para facilitar el decantado de la alúmina;
- Luego del agregado de la alúmina, coloque un vaso de precipitados de 50 mL sobre la balanza calibrada y tare su peso. Pese aproximadamente 20 g ($\pm 0,2$ g) de sílica parcialmente desactivada por columna;
- Agregue diclorometano a cada vaso de precipitados y mezcle bien con una varilla de vidrio hasta no observar desprendimientos de burbujas de gas;
- Vierta la mezcla de sílica gel/diclorometano dentro de la columna utilizando un embudo. Enjuague el vaso de precipitados, el embudo y el interior del reservorio de la columna con pequeñas porciones de diclorometano para asegurarse que toda la sílica es transferida hacia la columna. Abra brevemente la llave de la columna para facilitar el decantado de la sílica;
- Agregue 2 cm de sulfato de sodio anhidro o arena lavada sobre la sílica. Si es necesario enjuague el reservorio con pequeñas porciones de diclorometano para asegurar la transferencia completa de sulfato de sodio anhidro o arena a la columna;
- Agregue, con cuidado para evitar alterar la superficie de la columna, 1–2 cm de cobre activado para la eliminación de azufre);
- Abra la llave de la columna para que eluya el diclorometano hasta alcanzar la superficie de cobre activado, recogiendo los desechos en recipientes adecuados;
- Agregue 50 mL de pentano y eluya hasta alcanzar la superficie de cobre activado;
- Cierre la llave y la columna esta lista para recibir el extracto de la muestra;

Purificación del extracto

- Enjuague la punta inferior de la columna de cromatografía (por debajo de la llave) con diclorometano;

- Reemplace el recipiente de desechos con un balón de 250 mL. Cada balón deberá estar debidamente identificado con el código de la muestra y batería de análisis;
- Transfiera los extractos de los tubos de concentración a las columnas utilizando pipetas Pasteur descartables. Los extractos de las muestras están, a este punto, concentrados en aproximadamente 2 mL en hexano;
- Abra la llave de la columna y permita que el extracto se introduzca dentro de la columna. Cierre la llave.
- Enjuague el tubo de concentración con 1 ml del disolvente de elución (1:1 diclorometano:pentano) y agregue el lavado a la columna utilizando la misma pipeta Pasteur por muestra;
- Abra la llave de la columna y permita que el primer lavado se introduzca dentro de la columna. Cierre la llave;
- Repita los dos pasos anteriores con dos enjuagues adicionales del tubo de concentración usando la mezcla de elución y permitiendo que el lavado se introduzca completamente dentro de la columna antes del agregado siguiente;
- Luego de la transferencia completa de los extractos a las columnas y de sus respectivos enjuagues, agregue, con cuidado para no disturbar la superficie de la columna y evitar así la resuspensión de la muestra, 200 mL de la mezcla diclorometano:pentano utilizando un cilindro graduado;
- Abra la llave y eluya la muestra a una velocidad de unos 2 mL por minuto, ajustando la llave como sea necesario;
- Una vez que ha eluido el volumen total de la mezcla de diclorometano:pentano, cierre la llave. Retire y cubra el balón. Retire las columnas de cromatografía y deseche apropiadamente la sílica y alúmina utilizadas;
- Los extractos limpios de las muestras están listos para ser concentrados para su análisis instrumental.

Concentración final del extracto

- Agregue unos 4–5 núcleos de ebullición al balón, conecte una columna de destilación tipo Snyder de tres bolas y coloque el balón en un baño de agua a 60–65°C para concentrar el volumen a 10–15 mL. Alternativamente, el extracto puede ser concentrado en un rotoevaporador cuidando que la temperatura del baño de agua no sobrepase los 35°C. Evite la contaminación cruzada entre muestras;
- Transfiera el volumen a un tubo de concentración de 25 mL y enjuague el balón con pequeñas porciones de diclorometano. Recoja los líquidos de lavado en el mismo tubo de concentración. Agregue un núcleo de ebullición al tubo de concentración y coloque sobre baño de agua a 60–65°C hasta concentrar el extracto a aproximadamente 1 mL en diclorometano bajo una corriente suave de nitrógeno;
- Sin retirar del baño, agregue al tubo de concentración 10 mL de hexano y lleve nuevamente a 1 mL bajo una corriente suave de nitrógeno. Repita este paso tantas veces como sea necesario hasta reemplazar todo el diclorometano por hexano, lo cual se evidencia por la ausencia de ebullición en el líquido;
- Transfiera cuantitativamente a viales de cromatografía, cuidando de enjuagar el tubo de concentración con 2 ó 3 pequeñas porciones de hexano, y adicione los estándares internos correspondientes a todas las muestras, incluyendo las muestras destinadas al control de calidad (ver Anexos);
- Agregue hexano, o permita evaporar espontáneamente el exceso de solvente bajo campana, para ajustar a aproximadamente 1 mL y proceda con el análisis instrumental.

III.9.4. Análisis instrumental

Los conceptos que se discuten en las secciones siguientes son generalidades que aplican tanto al análisis de hidrocarburos alifáticos y totales por cromatografía de gases asociada a un detector de ionización de llama, como a la determinación de plaguicidas clorados por cromatografía de gases asociada a un detector de captura electrónica, o a la determinación de hidrocarburos aromáticos policíclicos mediante cromatografía de gases asociada a un detector de espectrometría de masas. La única excepción es el control de la degradación de plaguicidas clorados en el puerto de inyección.

III.9.4.1. Límites de detección

Los límites de detección del método para los análisis rutinarios deben ser determinados antes de comenzar los análisis siguiendo las indicaciones proporcionadas en el Federal Register (1984), resumidas en el cuadro siguiente, o similar. En su defecto se pueden utilizar las concentraciones de la disolución de calibración más baja usada en los análisis, ajustada por el peso de muestra extraída.

Definición y procedimientos para la determinación de los límites de detección del método

Definición

El límite de detección del método (LDM) se define como la concentración mínima de una sustancia que puede ser medida y reportada con una certeza del 99% de que la concentración determinada es distinta de cero. El LDM debe ser determinado a partir del análisis de una matriz específica que contiene el analito.

Aplicación

Este método está designado para ser aplicado a una variedad de muestras que van desde el blanco del método a distintas matrices. El LDM para un método analítico bien definido puede variar de acuerdo al tipo de muestra y es esencial que todos los pasos analíticos detallados en el método analítico sean incluidos al determinar el LDM.

Procedimiento

1. Estime el límite de detección del método como el valor de la concentración que corresponde a una relación señal:ruido del instrumento de 3 a 5.
2. Previo a la determinación del LDM, analice la muestra para determinar la concentración nativa del analito bajo estudio.
 - ✓ Si la concentración determinada está comprendida entre dos a cinco veces el límite de detección estimado, proceda con el estudio como se indica a continuación;
 - ✓ Si la presencia del analito no es detectada, proceda con el estudio como se indica a continuación;
 - ✓ Si la concentración determinada es mayor al rango recomendado, debe conseguir una muestra de la misma matriz proveniente de un área menos o no contaminada y vuelva a analizar.
3. Una vez determinada la concentración nativa del analito, analice un mínimo de siete alícuotas (enriquezca adecuadamente si en la muestra no se detectó el analito bajo estudio, o analice sin agregados si la concentración del analito resultó dentro de los límites recomendados) y procese de acuerdo al método analítico. Incluya un blanco de método en la batería analítica.
 - ✓ Si esta determinación confirma que la concentración del analito está dentro del rango recomendado, prosiga con los cálculos;
 - ✓ Si esta determinación indica que la concentración del analito está por fuera del rango recomendado, obtenga una nueva muestra y repita los pasos 2–3.
4. Calcule la varianza (S) y desvío estándar (s) de las medidas replicadas:

$$S^2 = \frac{1}{(n-1)} \left[\sum_{i=1}^n X_i^2 - \left(\frac{\sum_{i=1}^n X_i}{n} \right)^2 \right]$$

$$s = \sqrt{S^2}$$

donde

$X_i, i=1$ a n son los resultados analíticos finales obtenidos de las alícuotas analizadas;
 Σ es la suma de los valores X de $i=1$ a n .

5. Calcule el LDM de la siguiente manera:

$$\text{LDM} = t_{(n-1, 1-\alpha=0.99)} (s)$$

donde

LDM es límite de detección del método;

$t_{(n-1, 1-\alpha=0.99)}$ es el valor “t” del test de Student apropiado para un nivel de confianza de 99% y un desvío estándar con $n-1$ grados de libertad;

s es el desvío estándar de los análisis replicados.

6. El intervalo de confianza del 95% para el LDM calculado en el punto 5 se calcula de acuerdo a las siguientes ecuaciones derivadas de la distribución Chi-cuadrado para los grados de libertad.

Límite de confianza inferior (LCI)= 0,64 LDM

Límite de confianza superior (LCS)= 2,20 LDM

Alternativamente se pueden utilizar las concentraciones de la disolución de calibración más baja usada en los análisis, ajustada por el peso de muestra extraída, para estimar los límites de detección. Por ejemplo, en la medición de plaguicidas clorados por cromatografía de gases asociada a un detector de captura electrónica, se recomienda un rango de concentraciones de calibración entre 200 y 5 ng/mL (ver información en Anexos). Si el peso de muestra extraída es de 10 gramos, y concentrada a un volumen final de 1 mL, el límite de detección estimado es:

$$\text{LDM}_{\text{estimado}} = \frac{C_{\text{min}}}{\text{PM}} = \frac{5 \text{ ng/mL}}{10 \text{ g/mL}} = 0,5 \text{ ng/g}$$

donde

$\text{LDM}_{\text{estimado}}$ es el límite de detección estimado del método;

C_{min} es la concentración de la disolución de calibración más baja;

PM es el peso de muestra extraída.

III.9.4.2. Control de calidad analítica

Los controles de calidad requeridos para el análisis cuantitativo de los compuestos de interés están resumidos en Cuadro III.1 y discutidos en detalle a continuación. Estos criterios pueden ser modificados por el encargado del laboratorio según lo considere necesario.

III.9.4.3. Calibración inicial del instrumento

La calibración de todo instrumento debe realizarse antes de analizar las muestras. En el caso del análisis de plaguicidas clorados es preferente realizar la curva de calibración con un mínimo de cuatro niveles utilizando una ecuación cuadrática o exponencial para compensar por el limitado rango de linealidad del detector de captura electrónica. La calibración es considerada aceptable si presenta un coeficiente de correlación ($r \geq 0,9950$ (i.e. $R^2 \geq 0,9900$)) para todos los analitos presentes en las disoluciones. Si este criterio no se satisface para un analito en particular y el mismo se encuentra presente en las muestras, la calibración debe realizarse nuevamente seguida del análisis de las muestras. En el análisis de hidrocarburos alifáticos y totales o hidrocarburos aromáticos policíclicos mediante un detector de ionización de llama o de masas, respectivamente, muchos más estables y de respuesta lineal comparados con el detector de captura electrónica, es posible realizar, además de las calibraciones anteriores, una calibración basada en los factores de respuesta relativos obtenidos de las disoluciones de calibración para demostrar la linealidad del detector utilizado.

III.9.4.4. Verificación del mantenimiento de la calibración inicial

La calibración inicial del instrumental puede durar días o semanas, pero su validez debe verificarse cada vez que se comienza una batería analítica y cada 12 horas, como máximo, mediante la inyección de una disolución con concentraciones comprendidas dentro del rango de calibración.

CUADRO III.1. REQUERIMIENTOS DE CONTROL DE CALIDAD PARA EL ANÁLISIS CUANTITATIVO DE CONTAMINANTES ORGÁNICOS

Parámetro	Criterio de Control de Calidad	Frecuencia
— Calibración inicial del instrumento (utilizando factores de respuesta relativos)	Mínimo de 4 disoluciones de calibración con un desvío porcentual relativo de los factores de respuesta igual o menor a $\pm 15\%$	Al comienzo de una batería analítica
— Calibración inicial del instrumento (utilizando una ecuación cuadrática o exponencial)	Mínimo de 4 disoluciones de calibración con un coeficiente de correlación $\geq 0,990$	Al comienzo de una batería analítica
— Verificación de mantenimiento de la calibración inicial	Control de calibración (ConCal); error menor a $\pm 25\%$ con respecto a las concentraciones nominales	Luego de la calibración inicial y cada 12 horas como máximo
— Identificación cualitativa de los compuestos de interés (GC/ECD y GC/FID)	Tiempos de retención dentro de ± 4 segundos de los tiempos de referencia	Todas las muestras
— Identificación cualitativa de los compuestos de interés (GC/MS)	Tiempos de retención dentro de ± 4 segundos de los tiempos de referencia Diferencia entre tiempos de retención de iones seleccionados no mayor de ± 2 segundos	Todas las muestras
— Blanco de instrumento	Instrumental libre de contaminación	Antes de realizar la calibración (o control de calibración) y de comenzar el análisis de las muestras
— Control de degradación en el sistema (análisis de plaguicidas)	La degradación de compuestos más lábiles no debe ser mayor al 15%	Antes de realizar la calibración (o control de calibración) y de comenzar el análisis de las muestras
— Recobre de estándares de recuperación	Recuperación entre 40 a 120% de todos los estándares de recuperación	Todas las muestras
— Blanco de laboratorio	No más de dos analitos detectados en concentraciones > 3 veces el límite de detección del método	Uno por batería analítica
— Muestra duplicada	Diferencia porcentual relativa $< 30\%$ para todos los analitos de interés que resulten > 10 veces el límite de detección del método	Una por batería analítica
— Blanco de laboratorio enriquecido	Recuperación entre 40 a 120% para el 80% de los analitos de interés	Uno por batería analítica. Pueden reemplazar la muestra enriquecida y
— Blanco de laboratorio enriquecido en duplicado	Diferencia porcentual relativa $< 30\%$ para todos los analitos de interés	muestra enriquecida en duplicado si no se dispone de suficiente material
— Muestra enriquecida	Recuperación entre 40 a 120% para el 80% de los analitos de interés	Uno por batería analítica. Pueden ser reemplazados por el blanco enriquecido y
— Muestra enriquecida en duplicado	Diferencia porcentual relativa $< 30\%$ para todos los analitos de interés	blanco enriquecido en duplicado si no se dispone de suficiente material
— Material de referencia certificado	Recuperación de los analitos de interés, presentes en concentraciones > 10 veces el límite de detección del método, dentro del rango certificado	Uno por batería analítica si está disponible. Puede ser reemplazado por una muestra enriquecida

III.9.4.5. Secuencia analítica

Si la batería de muestras extraídas por el laboratorio incluye, por ejemplo, 16 muestras originales además de las muestras destinadas al control de la calidad (blanco, muestra duplicada, blanco enriquecido, muestra enriquecida, muestra enriquecida en duplicado, material de referencia), la secuencia analítica del instrumento puede tomar la forma siguiente:

Secuencia Analítica		
Orden	I.D.	Clase
1	W1000	Disolvente
2	W1001	Disolución de Calibración 1
3	W1002	Disolución de Calibración 2
4	W1003	Disolución de Calibración 4
5	W1004	Disolución de Calibración 5
6	W1005	Disolución de Calibración 3 (control)
7	Q3645	Blanco
8	Q3646	Blanco enriquecido
9	Q3647	Muestra duplicada
10	Q3648	Muestra enriquecida
11	Q3649	Muestra enriquecida en duplicado
12	Q3650	Material de referencia certificado
13	K1518	Muestra 1
14	W1006	Disolución de Calibración 3 (control)
15	K1519	Muestra 2
16	K1522	Muestra 3
17	K1523	Muestra 4
18	K1525	Muestra 5
19	K1526	Muestra 6
20	K1527	Muestra 7
21	K1540	Muestra 8
22	K1541	Muestra 9
23	W1007	Cal 3 (control)
24	K1542	Muestra 10
25	K1543	Muestra 11
26	K1544	Muestra 12
27	K1545	Muestra 13
28	K1546	Muestra 14
29	K1547	Muestra 15
30	K1548	Muestra 16
31	W1008	Disolución de Calibración 3 (control)

Note que en este ejemplo se utilizan cuatro niveles de calibración, dejándose el nivel intermedio (i.e. Calibración 3) como disolución independiente para controlar la validez y mantenimiento de la calibración inicial durante la corrida analítica.

III.9.4.6. Identificación cualitativa de los compuestos de interés

La identificación cualitativa de un analito en el extracto de muestra por cromatografía de gases se basa en la comparación del tiempo de retención del mismo con el tiempo de retención promedio observado para ese compuesto en las disoluciones de calibración. La diferencia entre los tiempos de retención no debe ser mayor a ± 4 segundos. El analista experimentado debe utilizar la selección manual de picos y corrección de la línea de base cuando sea apropiado y ajustar el tamaño de la ventana de tiempo de retención para asegurar que todos los compuestos sean identificados correctamente. La intensidad del pico elegido no debe ser menor a tres veces el ruido de base.

Es importante destacar que, para la identificación cualitativa de un analito por medio de cromatografía de gases asociada a espectrometría de masas, es necesario, además del requerimiento de ± 4 segundos mencionado anteriormente para los tiempos de retención, tener una diferencia menor a ± 2 segundos entre los tiempos de retención correspondientes a los iones seleccionados como de cuantificación y confirmación.

III.9.4.7. Blanco del instrumento

El blanco de instrumento (o blanco de disolvente) es inyectado y analizado antes de cada secuencia analítica para verificar la operación del cromatógrafo y la ausencia de contaminación en el sistema. Los análisis no deben ser iniciados hasta que el blanco del instrumento esté completamente libre de compuestos contaminantes.

En caso de problemas con el blanco del instrumento, se deben tomar acciones correctivas como, por ejemplo, reemplazo de la jeringa, inyecciones repetidas de disolvente, limpieza del puerto de inyección con cambio del inserto de vidrio, retiro de una porción de la columna de cromatografía o reemplazo de la columna.

III.9.4.8. Control de la degradación en el sistema (análisis de plaguicidas)

Después de comprobar que el instrumento se encuentra libre de contaminantes, se debe controlar que el sistema no presenta sitios activos que puedan degradar a los compuestos más lábiles en el análisis de plaguicidas clorados. Una disolución de compuestos seleccionados (e.g. DDT y Aldrin que son conocidos por su degradación en el puerto de inyección bajo ciertas condiciones) es utilizada para verificar si el sistema es inerte. La degradación de estos compuestos en la puerta de inyección no debe ser mayor a un 15% de la cantidad inyectada para considerar que el sistema está listo para iniciar una corrida analítica. Si la degradación de cualquiera de estos compuestos es mayor al 15% se debe corregir el problema antes de comenzar con los análisis. Esto puede representar el cambio del inserto de vidrio y del sello inferior del inyector o retiro de una porción de la columna.

III.9.4.9. Recobre de estándares de recuperación

Todas las muestras, incluyendo aquellas introducidas por el laboratorio y destinadas al control de calidad, son sembradas con las cantidades adecuadas de los estándares de recuperación apropiados para el análisis correspondiente. Estos estándares son utilizados para determinar la concentración de los analitos de interés y para evaluar el comportamiento del método. Esto se hace utilizando como referencia a uno o más estándares internos. Distintos análisis pueden requerir diferentes estándares de recuperación e internos y los límites de recuperación aceptables para estándares de recuperación son definidos durante el desarrollo del método.

- En general, el análisis rutinario de contaminantes orgánicos requiere que la recuperación de los estándares agregados esté comprendida entre el 40 al 120% de la cantidad sembrada. Si esto no se logra, se deben revisar los cálculos, evaluar posibles interferencia con cualquiera de los dos tipos de estándares (de recuperación e internos), errores de siembra, problemas con las soluciones de siembra, etc. En el caso de recuperaciones constantemente por encima de 120%, se debe sospechar una posible concentración de la disolución que lo(s) contiene(n) por evaporación del solvente;
- Si la recuperación del estándar utilizado para determinar las concentraciones de los analitos de interés en una o más muestras presenta una recuperación por encima del 120% se debe sospechar la existencia de interferencias si el mismo estándar en las disoluciones de calibración y en la mayoría de las muestras de la batería analítica está en control. De ser posible, es conveniente tener más de un estándar de recuperación para evitar este problema;
- Si la causa de una recuperación fuera de límites no es identificada, el extracto debe ser re-analizado. Si el re-análisis rinde una recuperación dentro de los límites establecidos, la muestra puede ser reportada, caso contrario debe regresarse al laboratorio para una nueva limpieza o para su re-extracción. Si aún persiste el problema, la muestra se reporta con la notación correspondiente.

III.9.4.10. Blanco de laboratorio

El blanco de laboratorio (o blanco de método) es utilizado para demostrar que no existieron problemas de contaminación en el laboratorio durante el procesamiento de la batería analítica. Se requiere un blanco del método para cada grupo de muestras que son procesadas al mismo tiempo.

- Un blanco es aceptable cuando no contiene más de dos analitos de interés en concentraciones mayores a 3 veces los límites de detección establecidos para el método (LDM). Si existieran más de dos analitos de interés en el blanco en concentraciones mayores a 3 veces los límites de detección del método, puede necesitarse la re-extracción de todas las muestras;
- Si cualquiera de los analitos de interés detectados en el blanco de laboratorio presenta una concentración mayor a 3 veces el límite de detección, pero no es detectado en las muestras en concentraciones mayores al límite de detección, el resultado de ese analito en el blanco debe ser identificado como “3>LDM” y se continúa con el análisis y reporte;
- Cuando un analito de interés se detecta en el blanco de laboratorio en una concentración mayor a 3 veces el límite de detección y la concentración del mismo compuesto en las muestras es 10 veces mayor que la concentración encontrada en el blanco, el valor en el blanco es identificado como “3>LDM” y las muestras se reportan al considerarse que la contaminación evidenciada en el blanco de laboratorio es relativamente insignificante;
- Cuando un analito de interés se detecta en el blanco de laboratorio en una concentración mayor a 3 veces el límite de detección y la concentración del mismo compuesto en las muestras es menor a 10 veces la concentración encontrada en el blanco, las muestras de esa batería analítica deberán ser re-extraídas y re-analizadas. Si no se dispone de suficiente muestra para hacerlo, las concentraciones encontradas se pueden reportar pero el analito en el blanco debe ser identificado con el calificador “3>LDM” y en las muestras con el calificador “B” (Blanco de laboratorio contaminado).

III.9.4.11. Muestra duplicada

El análisis de la muestra duplicada es utilizado para estimar el grado de homogeneidad de las muestras y, en conjunto con la muestra original, la precisión de los análisis. Se requiere una muestra enriquecida en cada batería analítica. Se espera que las diferencias porcentuales relativas entre las concentraciones encontradas en la muestra original y muestra duplicada sean menores al 25%. Si estas diferencias son mayores en más de un 20% de los analitos detectados en concentraciones mayores a 10 veces el límite de detección se requiere una acción correctiva. Esto puede incluir, revisión de las integraciones e identidades de los picos del cromatograma y cálculos, re-inyección y re-análisis de ambas muestras, mantenimiento y/o nueva calibración del equipo o re-extracción de la batería analítica.

III.9.4.12. Blanco de laboratorio enriquecido y blanco de laboratorio enriquecido en duplicado

El blanco de laboratorio enriquecido es utilizado para estimar la precisión analítica del método. Puede reemplazar a la muestra enriquecida cuando no se dispone de suficiente material para producirla. El blanco de laboratorio enriquecido en duplicado es utilizado para estimar la precisión analítica y, conjuntamente con el blanco de laboratorio enriquecido, la exactitud de los análisis. Se requiere un blanco de laboratorio enriquecido en cada batería analítica.

- El análisis de un blanco de laboratorio enriquecido es aceptable cuando el 80% de los analitos de interés presentan una recuperación entre 40 y 120% de la cantidad sembrada;
- Si el criterio anterior no se cumple, se impone una acción correctiva la cual puede incluir la revisión de los cálculos y/o re-análisis, re-extracción del grupo de muestras y re-calibración o mantenimiento del equipo;
- Si la batería analítica incluye un blanco de laboratorio enriquecido en duplicado, las recuperaciones de analitos sembrados en este y en el blanco de laboratorio enriquecido no deben presentar una Diferencia Porcentual Relativa (DPR) mayor al 30%.

III.9.4.13. Muestra enriquecida y muestra enriquecida en duplicado

El análisis de la muestra enriquecida es utilizado para estimar la exactitud de los análisis en presencia de la matriz. La muestra enriquecida en duplicado es utilizada para estimar la precisión analítica y, conjuntamente con la muestra enriquecida, la exactitud de los análisis. Se requiere una muestra enriquecida en cada batería analítica. Cuando no se dispone de material suficiente para producir una muestra enriquecida, la misma puede ser sustituida por el blanco de laboratorio enriquecido.

- El análisis de la muestra enriquecida es aceptable cuando la recuperación del 80% de los analitos de interés se encuentran entre 40 y 120% de la cantidad sembrada. Es posible que la recuperación de uno o varios analitos se vea invalidada por las altas concentraciones presentes naturalmente en la muestra. En este caso, sólo se consideran, para el cómputo, las recuperaciones de los analitos que no presentan este problema. Si la mayoría de o todos los analitos presentan este problema, se dice que la muestra seleccionada para su enriquecimiento no es válida y se continua con el análisis de las muestras en la batería analítica;
- Si las concentraciones nativas en la muestra no son un problema y más del 20% de los analitos de interés presentan recuperaciones por fuera de los límites establecidos, se debe considerar revisar las integraciones e identidades de los picos del cromatograma, repasar los cálculos, o re-analizar el extracto. Si aún no se cumple con el criterio de control de calidad, se deberá decidir la re-extracción de las muestras;
- Si la batería analítica incluye una muestra enriquecida en duplicado, las recuperaciones de analitos sembrados en esta y en la muestra enriquecida no deben presentar una Diferencia Porcentual Relativa (DPR) mayor al 30%.

III.9.4.14. Material de referencia certificado

El análisis de un material de referencia certificado es utilizado para estimar la precisión y exactitud analítica del método. Si no se dispone de un material de referencia certificado el blanco de laboratorio enriquecido puede utilizarse con este propósito. Se requiere el análisis de un material de referencia certificado en cada batería analítica.

- El análisis de un material de referencia certificado es aceptable cuando el 80% de los analitos de interés, presentes en el material en concentraciones mayores a 10 veces el LDM, se encuentran dentro de los rangos de concentraciones certificadas;
- Si el criterio anterior no se cumple, es necesario revisar las integraciones e identidad de los picos del cromatograma, repasar los cálculos o re-inyectar el extracto. Si aún no se cumple con el criterio de control de calidad, se deberá decidir la re-extracción de las muestras.

III.9.4.15. Evaluación de los parámetros de control de calidad analítica

Recobre de estándares de recuperación: los porcentajes de recobre de los estándares de recuperación en los extractos de muestras son estimados comparando la respuesta relativa del estándar de recuperación en la muestra con la obtenida de las disoluciones de calibración. El laboratorio deberá tomar las acciones correctivas apropiadas cada vez que la recuperación de los estándares de recuperación esté fuera del rango buscado (ver: Control de calidad analítica, Recobre de estándares de recuperación). En general, se considera aceptable una recuperación comprendida entre 40–120% calculada como:

$$\text{Rec. de Estándares (\%)} = \frac{A_{\text{reM}} * \overline{A_{\text{eiC}}}}{A_{\text{eiM}} * \overline{A_{\text{reC}}}} * 100 \quad (1)$$

donde

A_{reM} es el área en muestra del estándar de recuperación;
 A_{eiM} es el área en muestra del estándar interno;
 $\overline{A_{\text{reC}}}$ es el área promedio del estándar de recuperación en soluciones de calibración;
 $\overline{A_{\text{eiC}}}$ es el área promedio del estándar interno en soluciones de calibración.

Esto asume que las concentraciones de estándares de recuperación e internos en las soluciones de calibración son iguales a las sembradas en las muestras. Si las concentraciones son distintas, entonces:

$$\text{Rec. de Estándares (\%)} = \frac{(A_{\text{reM}} / C_{\text{reM}}) * (\overline{A_{\text{eiC}}} / C_{\text{eiC}})}{(A_{\text{eiM}} / C_{\text{eiM}}) * (\overline{A_{\text{reC}}} / C_{\text{reC}})} * 100 \quad (2)$$

donde

C_{reM} es la concentración del estándar de recuperación en muestra;
 C_{eiM} es la concentración del estándar interno en muestra;
 C_{reC} es la concentración del estándar de recuperación en soluciones de calibración;
 $\overline{C_{\text{eiC}}}$ es al concentración del estándar interno en soluciones de calibración.

Muestra Original *versus* Muestra Duplicada — Diferencia porcentual relativa

Las concentraciones encontradas en la muestra original y su muestra duplicada deben ser comparables para certificar la homogeneidad de las muestras y la precisión de los análisis (ver: Control de calidad analítica, Muestra duplicada). De no cumplirse con los requerimientos de control de calidad, el laboratorio deberá implementar las acciones correctivas necesarias.

$$\text{Diferencia Porcentual Relativa (DPR)} = \left[\frac{(C_{\text{mo}} - C_{\text{md}})}{\left(\frac{C_{\text{mo}} + C_{\text{md}}}{2} \right)} \right] * 100 \quad (3)$$

donde

C_{mo} es la concentración encontrada en la muestra original;
 C_{md} es la concentración encontrada en la muestra duplicada.

Recuperación de analitos de interés en muestras enriquecidas y materiales de referencia certificados: una buena recuperación de los analitos agregados a las muestras enriquecidas, o duplicación de concentraciones certificadas en materiales de referencia, son indicativos de una buena técnica de laboratorio. El porcentaje de recuperación de los distintos analitos sembrados en muestras enriquecidas es calculada utilizando la ecuación:

$$\text{Porcentaje de recuperación} = \left[\frac{(C_{me} * M_{me} - C_{mo} * M_{mo})}{A_{ad}} \right] * 100 \quad (4)$$

donde

- C_{me} es la concentración encontrada en la muestra enriquecida;
 C_{mo} es la concentración encontrada en la muestra original;
 M_{me} es el tamaño de muestra enriquecida;
 M_{mo} es el tamaño de muestra original;
 A_{ad} es la concentración de analito adicionado a la muestra enriquecida.

Calcule y reporte el porcentaje de recuperación de todos los analitos de interés adicionados a las muestras enriquecidas y todos los compuestos con concentración certificada en los materiales de referencia. Note que, por definición, C_{mo} en el blanco de laboratorio enriquecido y su duplicado es igual a cero. El laboratorio deberá implementar las acciones correctivas necesarias si los requerimientos de control de calidad no se cumplen (ver: Control de calidad analítica, Muestra enriquecida y muestra enriquecida en duplicado y Material de referencia certificado).

III.9.5. Determinación cuantitativa de plaguicidas clorados por cromatografía de gases con detector de captura electrónica

III.9.5.1. Introducción

Los plaguicidas clorados son rutinariamente cuantificados mediante la técnica de cromatografía de gases asociada a un detector de captura electrónica (GC/ECD, por sus siglas en inglés). Esta técnica es muy sensible y capaz de determinar estos compuestos contaminantes a niveles trazas (e.g. ng g^{-1} , pg g^{-1}). El método que se describe es aplicable a extractos de muestras de sedimentos luego de la limpieza apropiada.

Los plaguicidas clorados de interés para este estudio se limitan a:

Plaguicidas clorados	Aldrin	Endosulfan I	beta-HCH
	alpha-clordano	Endosulfan II	delta-HCH
	Dieldrin	Endosulfan sulfato	gamma-HCH (Lindano)
	4,4'-DDD	Endrin aldehído	Heptacloro
	4,4'-DDE	Endrin cetona	Heptacloro epóxido
	4,4'-DDT	alpha-HCH	Metoxicloro
	Endrin		
Plaguicidas clorados adicionales	Gamma-clordano	Trans-nonacloro	2,4'-DDE
	Cis-nonacloro	2,4'-DDD	2,4'-DDT

III.9.5.2. Equipamiento y materiales

Cromatógrafo de gases asociado a un detector de captura electrónica

El cromatógrafo de gases debe poseer un inyector tipo “split/splitless” y tener la capacidad de utilizar una columna capilar en horno de temperatura programable asociada a un detector de captura electrónica normal o micro detector.

La columna comúnmente utilizada para el análisis de plaguicidas tiene las siguientes características: columna capilar de 30 m de longitud x 0,25 mm de diámetro interno y una fase líquida DB-5 de 0,25 μm de espesor. Otras columnas de similares características pueden utilizarse. Es conveniente contar con un inyector automático con capacidad de realizar inyecciones de 1 a 4 μL . Una segunda columna de diferente polaridad, tipo DB-17ht o equivalente, puede ser utilizada para la confirmación de los compuestos de interés. El programa utilizado para el análisis de plaguicidas por cromatografía de gases y captura electrónica es el siguiente:

- Temperatura del inyector: 275°C;
- Temperatura del detector: 325°C;
- Programa de temperatura del horno:
 - Temperatura inicial: 100°C mantenida por 1 minuto
 - 1^{ra} rampa de calentamiento 5,0°C min⁻¹
 - Temperatura final 1^{ra} rampa 140°C mantenida por 1 minuto
 - 2^{da} rampa de calentamiento 1,5°C min⁻¹
 - Temperatura final 2^{da} rampa 250°C mantenida por 1 minuto
 - 3^{ra} rampa de calentamiento 10°C min⁻¹
 - Temperatura final 3^{ra} rampa 300°C mantenida por 5 minutos
- Gas transportador Helio a ~1,5 mL min⁻¹;
- Gas secundario (“make-up”) Argón/Metano (95:5) a ~40 mL min⁻¹;
- Tiempo total 94.3 minutos

Estas condiciones pueden ser modificadas para mejorar el perfil cromatográfico si es necesario.

III.9.5.3. Calibración del cromatógrafo

La calibración del cromatógrafo de gases para el análisis de plaguicidas debe realizarse utilizando uno de los métodos indicados anteriormente (ver Control de calidad, Calibración del instrumental). Debido a la reducida linealidad del detector de captura electrónica, es recomendable calibrar el instrumento utilizando una ecuación de tipo cuadrática o exponencial.

III.9.5.4. Análisis cromatográfico de las muestras

Como se ha mencionado, las muestras dedicadas al control de calidad (e.g. blanco, muestra en duplicado, muestra enriquecida, y material de referencia) y muestras que componen el lote analítico son analizadas como una sola secuencia analítica con las disoluciones de calibración o de control de la calibración (ver Control de calidad analítica, Calibración inicial del instrumental y Verificación del mantenimiento de la calibración inicial). Antes de comenzar la secuencia analítica, se debe inyectar 1 ó 2 μL de hexano (ver: Control de calidad, Blanco del instrumento) seguido de similar volumen de la disolución de control de la degradación (ver: Control de calidad, Control de la degradación en el sistema), para comprobar que el sistema está libre de contaminantes y no se observa degradación de los compuestos más lábiles en el puerto de inyección. El análisis de las muestras se hace inyectando de 1 a 4 μL de los extractos.

Es importante destacar que las muestras dedicadas al control de calidad dentro de un lote analítico deben ser evaluadas en conjunto ya que el incumplimiento de los criterios preestablecidos en una de esas muestras no significa necesariamente el rechazo de todas las muestras en esa extracción.

II.9.5.5. Control de degradación

La disolución utilizada para comprobar que el sistema no presenta sitios activos que puedan degradar a los analitos más lábiles contiene compuestos como el DDT y Aldrin, conocidos por su fácil degradación en el puerto de inyección bajo ciertas condiciones (ver: Control de calidad, Control de la degradación en el sistema). Esta disolución se prepara pesando las cantidades apropiadas de los compuestos puros, transferidos cuantitativamente a un matraz volumétrico, y diluyendo con hexano o disolvente similar no clorado para lograr concentraciones similares a las intermedias de la curva de calibración. Esta disolución debe contener, en su forma final y lista para utilizar, las cantidades adecuadas de estándares de recuperación e internos.

Control de degradación – Paso a paso

- El DDT y endrín pueden ser fácilmente degradados en el puerto de inyección del cromatógrafo si el mismo, o el principio de la columna, están sucios. Esta suciedad resulta de la acumulación de residuos de alto punto de ebullición de muestras analizadas previamente;
- Prepare una disolución de concentración conocida de 4,4'-DDT y endrín, correspondiente a la región central de la curva de calibración;
- Inyecte 2 μ L de esta disolución y analice utilizando el método que va a utilizar para el análisis de los extractos de las muestras;
- Registre la presencia y cantidades de los productos de degradación del 4,4'-DDT (4,4'-DDE y 4,4'-DDD) y endrín (endrín cetona y endrín aldehído);
- Calcule el porcentaje de degradación utilizando las siguientes fórmulas:

$$\% \text{ Degradación de 4,4'-DDT} = \left(\frac{(\text{Área de 4,4'-DDE} + \text{Área de 4,4'-DDD})}{(\text{Área de 4,4'-DDT} + \text{Área de 4,4'-DDE} + \text{Área de 4,4'-DDD})} \right) * 100$$

$$\% \text{ Degradación de endrin} = \left(\frac{(\text{Área de endrin cetona} + \text{Área de endrin aldehído})}{(\text{Área de endrin} + \text{Área de endrin cetona} + \text{Área de endrin aldehído})} \right) * 100$$

- Si la degradación de cualquiera de los dos analitos es superior al 15% se necesita corregir el problema antes de proceder con la calibración y análisis de los extractos de las muestras.

III.9.5.6. Identificación cualitativa de los analitos de interés

Para identificar un pico como correspondiente a un analito de interés se deben seguir el criterio discutido anteriormente (ver: Control de calidad, *Identificación cualitativa de compuestos de interés*). La Fig. 2 muestra el orden de elución y respuestas relativas de los insecticidas clorados, estándares de recuperación y estándar interno; la concentración de cada analito es 100 ng/mL.

III.9.5.7. Calibración inicial, verificación de la calibración y determinación cuantitativa de los analitos de interés

Debido al comportamiento poco lineal del detector de captura electrónica es conveniente calibrar el cromatógrafo utilizando un ajuste de curva que se acomode a ese comportamiento. Así, el procedimiento de ajuste de curva mediante ecuaciones cuadráticas o exponenciales resultan, por lo general, mas robustas que un ajuste de regresión lineal o el uso de factores de respuestas relativos.

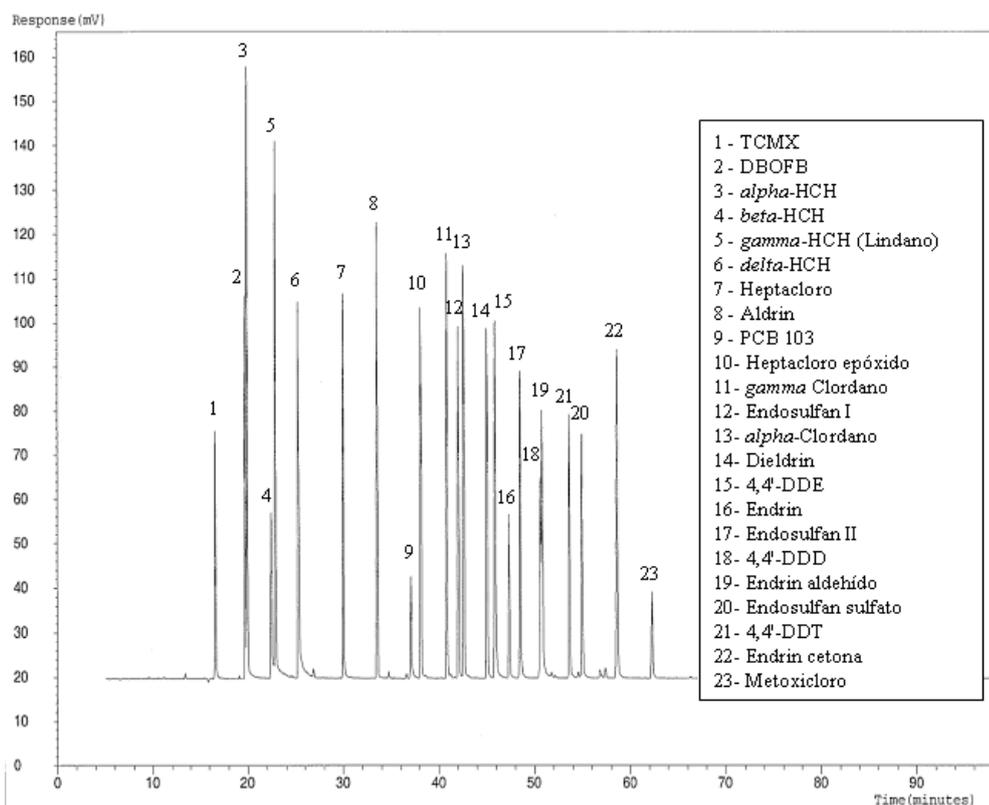


FIG. 2. Insecticidas clorados por cromatografía de gases y detector de captura electrónica.

Ecuación cuadrática

La curva de calibración se establece a partir de la información adquirida de la inyección de los distintos niveles de calibración. El ajuste de curva puede realizarse utilizando una ecuación de la forma:

$$Y = b_0 + b_1 x + b_2 x^2 \quad (5)$$

Donde:

x es la cantidad del analito de interés en ng;

b_0 , b_1 , y b_2 son los coeficientes de la ecuación cuadrática. Si la ecuación es forzada por cero, entonces $b_0 = 0$;

Y es el área modificada del analito de interés definido como:

$$Y = \left(\frac{A_a}{A_{re}} \right) * C_{re} \quad (6)$$

Donde:

A_a es el área del compuesto;

A_{re} área del estándar de recuperación;

C_{re} masa de estándar de recuperación en ng.

Para aquellos picos cromatográficos que satisfacen el criterio de identificación cualitativa (ver: Control de calidad analítica, *Identificación cualitativa de los compuestos de interés*).

Ecuación exponencial

Como alternativa a la ecuación cuadrática, se puede utilizar una ecuación exponencial de la forma:

$$Y = A X^B \quad (7)$$

donde

Y es la concentración relativa (razón de concentraciones entre C_a y C_{re});

X es el área relativa (razón de áreas entre A_a y A_{re});

A es la pendiente de la ecuación;

B es el coeficiente exponencial.

III.9.5.8. Calibración inicial

El criterio de aceptabilidad de la calibración inicial requiere que el desvío estándar relativo, expresado como porcentaje, de los factores de respuesta de cada compuesto en las disoluciones de calibración sea igual o menor al $\pm 15\%$.

Verificación de la calibración inicial

La calibración inicial debe controlarse cada 10–12 muestras o cada 12 horas como máximo mediante la inyección de una disolución preparada para tal fin o reinyección de uno de los niveles intermedios de las disoluciones de calibración. Se considera que la calibración inicial es aún aceptable si las concentraciones determinadas para esta disolución no difieren más que un $\pm 25\%$ del valor nominal.

III.9.5.9. Determinación cuantitativa de los analitos de interés

A partir de la información adquirida por la inyección de los distintos niveles de calibración, se calculan los coeficientes que satisfacen la ecuación de ajuste escogida y se utilizan para los cálculos de concentraciones de los respectivos analitos de interés en las muestras. La solución a la ecuación cuadrática (5):

$$x = \frac{-b_1 + \sqrt{b_1^2 - 4b_2(b_0 - Y)}}{2b_2} \quad (8)$$

producirá la cantidad de cada analito de interés en el extracto analizado. Para determinar la concentración del compuesto en la muestra, se deberá dividir el valor encontrado por el peso de muestra extraído para expresar la concentración como ng g^{-1} .

En el caso de utilizar una ecuación de calibración tipo exponencial (7), la misma se puede expresar como:

$$\frac{C_a}{C_{re}} = A \left(\frac{A_a}{A_{re}} \right)^B \quad (9)$$

donde

C_a es la concentración del analito (ng mL^{-1});

C_{re} es la concentración del estándar de recuperación utilizado (ng mL^{-1});

A_a es el área del analito que se mide;

A_{re} es el área del estándar de recuperación utilizado.

Como C_a y C_{re} se refieren a las concentraciones del analito y estándar de recuperación en el mismo volumen de extracto, ambos pueden ser substituidos por sus cantidades. Reacomodando los términos de la ecuación y dividiendo ambos lados de la misma por la cantidad de muestra extraída, es posible expresar la concentración del analito de interés como $ng\ g^{-1}$:

$$[\text{Analito}]_{(ng\ g^{-1})} = A \left(\frac{A_a}{A_{re}} \right)^B * \frac{M_{re}}{M_t} \quad (10)$$

donde

- A es la pendiente de la ecuación;
- B es el coeficiente exponencial;
- A_a es el área del analito que se mide;
- A_{re} es el área del estándar de recuperación utilizado;
- M_{re} cantidad de estándar de recuperación, en ng, agregado a la muestra antes de la extracción
- M_t tamaño de muestra, en gramos.

III.9.5.10. Control de calidad de los cálculos

Las concentraciones de los analitos de interés se basan en los factores de respuestas de esos compuestos en las disoluciones de calibración. En general, los sistemas cromatográficos modernos poseen programas de computadoras que permiten realizar estos cálculos de manera casi automática. No obstante, es importante entender los conceptos que se utilizan en estos cálculos para poder reproducir, en forma manual y como un control de calidad adicional, algunos de los resultados producidos por el software. Es prudente confirmar las concentraciones calculadas con cálculos independientes. Varias concentraciones seleccionadas al azar deben ser confirmadas utilizando, por ejemplo, la ecuación 8 ó 10 según sea el tipo de calibración realizada, en una hoja de cálculo comercial (Excel o similar) y comparadas con los valores reportados. Ambas concentraciones deben coincidir exactamente excepto por errores de redondeo.

Ejemplo de cálculos de concentraciones

La siguiente información es recopilada del libro del laboratorio y del impreso del análisis utilizando el software del cromatógrafo de gases. Para generalizar el ejemplo, se omiten los nombres del analito, estándar de recuperación y estándar interno:

Código de la muestra:	F99999;
Peso de la muestra:	5.211 g;
Masa de estándar de recuperación adicionado:	90.8 ng;
Volumen final:	1.0 mL;
concentración de estándar de recuperación (C_{re})	0,0000908 $\mu g\ mL^{-1}$;
Coeficientes de la curva de calibración:	$b_0 = 0.0000$ $b_1 = 0.4814$ $b_2 = -205.9000$;
Área del estándar de recuperación (A_{su}):	228.95;
Área del analito "A" (A_a)	24.211;
Valor calculado por el "software"	3.863 $ng\ g^{-1}$

Utilizando la ecuación:

$$x = \frac{-b_1 + \sqrt{b_1^2 - 4b_2(b_0 - Y)}}{2b_2} \quad (3)$$

donde:

$$Y = \left(\frac{A_a}{A_{re}} \right) * C_{re} \quad (2)$$

Cálculo manual de la concentración del analito "A"

$$Y = \left(\frac{24.211}{228.95} \right) * 0,0000908 \mu\text{g } \mu\text{L}^{-1} = 0,000009602 \mu\text{g } \mu\text{L}^{-1}$$

$$[\text{Analito A}] = \frac{-0,4814 + \sqrt{0,4814^2 - 4 * (-205,9) * (0 - 0,000009602)}}{2 * (-205,9)} = 0,000020119 \mu\text{g } \mu\text{L}^{-1}$$

$$[\text{Analito A}] = \frac{0,000020119 \mu\text{g } \mu\text{L}^{-1} * 1000 \text{ ng } \mu\text{g}^{-1} * 1000 \mu\text{L mL}^{-1}}{5,211 \text{ g}} = 3,861 \text{ ng g}^{-1}$$

La diferencia porcentual relativa entre la concentración obtenida mediante el uso del software del cromatógrafo de gas y el valor obtenido manualmente deben coincidir exactamente excepto por errores de redondeo.

$$\text{Diferencia Porcentual Relativa} = \left[\frac{(3,863 \text{ ng g}^{-1} - 3,861 \text{ ng g}^{-1})}{\left(\frac{3,863 \text{ ng g}^{-1} + 3,861 \text{ ng g}^{-1}}{2} \right)} \right] * 100 = 0,05\%$$

III.9.5.11. Dilución de un extracto

Si la respuesta instrumental de un analito excede la respuesta observada para el mismo compuesto en la disolución de calibración más concentrada, el extracto requiere una dilución apropiada. Para obtener una respuesta relativa (e.g. relación entre respuesta del compuesto y su estándar de recuperación) dentro de rango de concentraciones utilizadas para calibrar el cromatógrafo se procede a un nuevo agregado de estándares de recuperación antes de reanalizar la muestra.

Dilución de un extracto – Paso a paso

- Antes de hacer la dilución, asegúrese que el volumen del extracto original es exactamente 1 mL, ignorando la cantidad inyectada en el cromatógrafo (i.e. 1 ó 2 μL);
- Dependiendo de la dilución requerida, tome el volumen adecuado y exacto del extracto original y colóquelo en un nuevo vial. Es decir, si la muestra necesita ser diluida 10 veces, tome exactamente 0,100 mL y diluir a aproximadamente 1 mL (ver ejemplos enseguida);

Dilución Requerida	Volumen de extracto original	Volumen de disolución de estándares de recuperación	Volumen de disolvente ⁽²⁾	Volumen final ⁽²⁾
5 veces	0,200 mL	0,100 mL	~ 0,700 mL	~ 1 mL
10 veces	0,100 mL	0,100 mL	~ 0,800 mL	~ 1 mL
20 veces	0,050 mL ⁽¹⁾	0,100 mL	~ 0,850 mL	~ 1 mL
50 veces	0,020 mL ⁽¹⁾	0,100 mL	~ 0,880 mL	~ 1 mL
100 veces	0,010 mL ⁽¹⁾	0,100 mL	~ 0,890 mL	~ 1 mL
500 veces	0,002 mL ⁽¹⁾	0,100 mL	~ 0,898 mL	~ 1 mL

⁽¹⁾ es aconsejable realizar una dilución intermedia.

⁽²⁾ al utilizar los estándares de recuperación para determinar la concentración de los analitos de interés se produce una compensación interna y no es necesario llevar a volumen exacto.

- Siembre con 0,100 mL de la disolución de standards de recuperación;
- Lleve a aproximadamente 1 mL con hexano o disolvente similar no clorado y regrese al cromatógrafo para su re-inyección y análisis;
- El extracto diluido debe ser analizado para determinar solamente la concentración de aquellos analitos que exhibieron una concentración superior al nivel más alto de calibración.

III.9.5.12. Mantenimiento del cromatógrafo de gas y detector de captura electrónica

Existen varios pasos simples que pueden ayudar a mantener el buen funcionamiento del cromatógrafo de gas y su detector de captura electrónica. A saber:

- La jeringa debe ser enjuagada con el disolvente apropiado después de cada inyección. Esto puede hacerse manualmente o mediante el uso del inyector automático;
- Evite la inyección de extractos que contengan restos importantes de disolventes clorados (e.g. diclorometano) o altos contenidos de azufre (e.g. sedimentos anóxicos);
- El sello de inyección (i.e. septum) deberá cambiarse luego de unas cuantas inyecciones, dependiendo del estado de la aguja de la jeringa, para evitar fugas y variaciones en los tiempos de retención;
- Un inserto de vidrio nuevo deberá instalarse apenas se presenten signos de degradación de los compuestos más lábiles. Incluso, si se observa un incremento importante en el porcentaje de degradación de analitos en la disolución de control de la degradación, es conveniente reemplazar el inserto antes de llegar al nivel de acción del 15%;
- En ocasiones es necesario reemplazar, junto con el inserto de vidrio, el sello inferior del puerto de inyección (i.e. “gold seal”) para evitar degradación o arrastre de los picos;
- Si luego de reemplazar el inserto y sello aún se observa degradación, arrastre o disminución en la respuesta de los analitos de interés, será necesario remover las primeras dos vueltas de la columna capilar (extremo conectado al puerto de inyección);
- Los tanques de gases de arrastre (helio) y auxiliares (mezcla de argón:metano o nitrógeno) deben cambiarse antes de que estén vacíos para evitar suciedad que pueda incrementar el ruido de base o contaminar columna y/o detector. En general, es preferible cambiar el tanque cuando la presión en el mismo cae por debajo de las 500 psi;
- Todo mantenimiento que se realice al cromatógrafo de gas o detector de captura electrónica, incluyendo cambios de tanques de gases, debe ser registrado en un cuaderno o libro destinado para este fin y dedicado exclusivamente a un solo equipo.

III.9.5.13. Documentación

Al momento de recibir las muestras para su análisis instrumental, el analista debe también recibir, en un folder debidamente identificado, copias de las hojas del laboratorio que corresponda al lote analítico y en donde se documenta el proceso de las muestras incluyendo los problemas encontrados, accidentes ocurridos y/o comentarios relevantes (e.g. posibilidad de doble adición de estándares de recuperación, perdidas de muestra por derrames, evaporación del extracto a sequedad, etc.). De existir, también se debe incluir en el folder la documentación de iniciación o pedido de análisis donde se identifica la persona responsable del proyecto que pueda responder ante cualquier duda (e.g. tipo de análisis a realizar, cantidad de muestra a extraer, volumen de estándares de recuperación e internos a sembrar y reporte final de las concentraciones).

Al realizar el análisis instrumental, el analista debe agregar a este folder copia de la secuencia analítica, información sobre el blanco del instrumento, disolución de control de la degradación, calibración del instrumento, impresiones de los cromatogramas y sus análisis y copia del reporte finalizado. Este reporte final deberá incluir, además de los resultados de las muestras analizadas, información sobre las muestras de control de calidad (blanco de laboratorio, muestra duplicada, muestra enriquecida y material de referencia) y sus parámetros (recuperación de estándares de recuperación, diferencia porcentual relativa entre originales y duplicados, recuperación de analitos de interés en blancos y muestras fortificadas, duplicación de resultados certificados para el material de referencia).

III.9.5.14. Reporte de concentraciones

Las concentraciones son generalmente reportadas, con tres decimales, como ng g⁻¹ peso seco.

III.9.6 Determinación cuantitativa de hidrocarburos alifáticos y totales por cromatografía de gases con detector de ionización de llama

III.9.6.1. Introducción

Los alcanos normales, de C10 a C35, pristano y fitano, son cuantitativamente determinados mediante la técnica de cromatografía de gases asociada a un detector de ionización de llama (GC/FID, por sus siglas en inglés). Esta técnica es muy sensible y capaz de determinar estos compuestos contaminantes a niveles trazas (e.g. ng g⁻¹). El método que se describe es aplicable a extractos de muestras de sedimentos luego de la limpieza apropiada.

Los hidrocarburos alifáticos de interés para este estudio se limitan a:

n-Decano (n-C ₁₀)	n-Heptadecano (n-C ₁₇)	n-Tetracosano (n-C ₂₄)	n-Hentriacontano (n-C ₃₁)
n-Undecano (n-C ₁₁)	n-Octadecano (n-C ₁₈)	n-Pentacosano (n-C ₂₅)	n-Dotriacontano (n-C ₃₂)
n-Dodecano (n-C ₁₂)	n-Nonadecano (n-C ₁₉)	n-Hexacosano (n-C ₂₆)	n-Tritriacontano (n-C ₃₃)
n-Tridecano n-(C ₁₃)	n-Eicosano (n-C ₂₀)	n-Heptacosano (n-C ₂₇)	n-Tetracontano (n-C ₃₄)
n-Tetradecano (n-C ₁₄)	n-Heneicosano (n-C ₂₁)	n-Octacosano (n-C ₂₈)	n-Pentatriacontano (n-C ₃₅)
n-Pentadecano (n-C ₁₅)	n-Docosano (n-C ₂₂)	n-Nonacosano (n-C ₂₉)	Pristano
n-Hexadecano (n-C ₁₆)	n-Tricosano (n-C ₂₃)	n-Triacontano (n-C ₃₀)	Fitano

III.9.6.2. Equipamiento y materiales

Cromatógrafo de gases asociado a un detector de ionización de llama

El cromatógrafo de gases debe poseer un inyector tipo “split/splitless” y tener la capacidad de utilizar una columna capilar en horno de temperatura programable asociada a un detector de ionización de llama. La columna comúnmente utilizada para el análisis de hidrocarburos alifáticos y totales tiene las siguientes características: columna capilar de 30 m de longitud × 0,25 mm de diámetro interno y una fase líquida DB-5 de 0,25 μm de espesor. Otras columnas similares características pueden utilizarse. Es conveniente contar con un inyector automático con capacidad de realizar inyecciones de 1 a 4 μL. El programa utilizado para el análisis es el siguiente:

- Temperatura del inyector: 290°C;
- Temperatura del detector: 320°C;
- Programa de temperatura del horno:
 - Temperatura inicial: 35°C mantenida por 1 minuto;
 - 1^{ra} rampa de calentamiento 8,0°C min⁻¹;
 - Temperatura final 1^{ra} rampa 95°C mantenida por 0 minuto;
 - 2^{da} rampa de calentamiento 6,0°C min⁻¹
 - Temperatura final 2^{da} rampa 300°C mantenida por 9 minuto
 - 3^{ra} rampa de calentamiento 15°C min⁻¹;
 - Temperatura final 3^{ra} rampa 320°C mantenida por 4 minuto;
- Gas transportador Helio a ~2 mL min⁻¹;
- Gas secundario (“make-up”) Helio a ~33 mL min⁻¹;
- Gases de combustión:
 - Hidrogeno: ~30 mL min⁻¹;
 - Aire: ~350 mL min⁻¹;
- Tiempo total: 57 minutos

Estas condiciones pueden ser modificadas para mejorar el perfil cromatográfico si es necesario.

III.9.6.3. Calibración del cromatógrafo

La calibración del cromatógrafo de gases para el análisis de hidrocarburos alifáticos y totales debe realizarse utilizando uno de los métodos indicados anteriormente (ver Control de calidad, *Calibración del instrumento*). Debido al comportamiento estable del detector de ionización de llama y su respuesta lineal, es aconsejable calibrar el instrumental utilizando factores de respuesta relativos o una regresión de ajuste lineal.

III.9.6.4. Análisis cromatográfico de las muestras

Como se ha mencionado, las muestras dedicadas al control de calidad (e.g. blanco, muestra en duplicado, muestra enriquecida, y material de referencia) y muestras que componen el lote analítico son analizadas como una sola secuencia analítica con las disoluciones de calibración o de control de la calibración (ver Control de calidad analítica, *Calibración inicial del instrumento* y *Verificación del mantenimiento de la calibración inicial*). Antes de comenzar la secuencia analítica, se debe inyectar 1 ó 2 µL de hexano (ver: Control de calidad, *Blanco del instrumento*) para comprobar que el sistema está libre de contaminantes. El análisis de las muestras se hace inyectando de 1 a 4 µL de los extractos.

Es importante destacar que las muestras dedicadas al control de calidad dentro de un lote analítico deben ser evaluadas en conjunto ya que el incumplimiento de los criterios preestablecidos en una de esas muestras no significa necesariamente el rechazo de todas las muestras en esa extracción.

III.9.6.5. Identificación cualitativa de los analitos de interés

Para identificar un pico como correspondiente a un analito de interés se deben seguir el criterio discutido anteriormente (ver: Control de calidad de los análisis, *Identificación cualitativa de compuestos de interés*). La Fig. 3 muestra el orden de elución y respuestas relativas de los hidrocarburos alifáticos, estándares de recuperación y estándar interno; la concentración de cada analito es 5000 ng mL⁻¹.

III.9.6.6. Calibración inicial, verificación de la calibración y determinación cuantitativa de los analitos de interés

El detector de ionización de llama es estable y presenta un comportamiento lineal por lo que es posible calibrar el cromatógrafo utilizando un ajuste de regresión lineal o el uso de factores de respuestas relativos. El factor de respuesta de cada compuesto, relativo a su estándar de recuperación, se calcula a partir de la información adquirida de la inyección de los distintos niveles de calibración mediante la siguiente ecuación:

$$FRR = \left(\frac{\frac{A_a}{C_a}}{\frac{A_{su}}{C_{su}}} \right) \quad \text{ó} \quad FRR = \left(\frac{A_a C_{re}}{A_{re} C_a} \right) \quad (11)$$

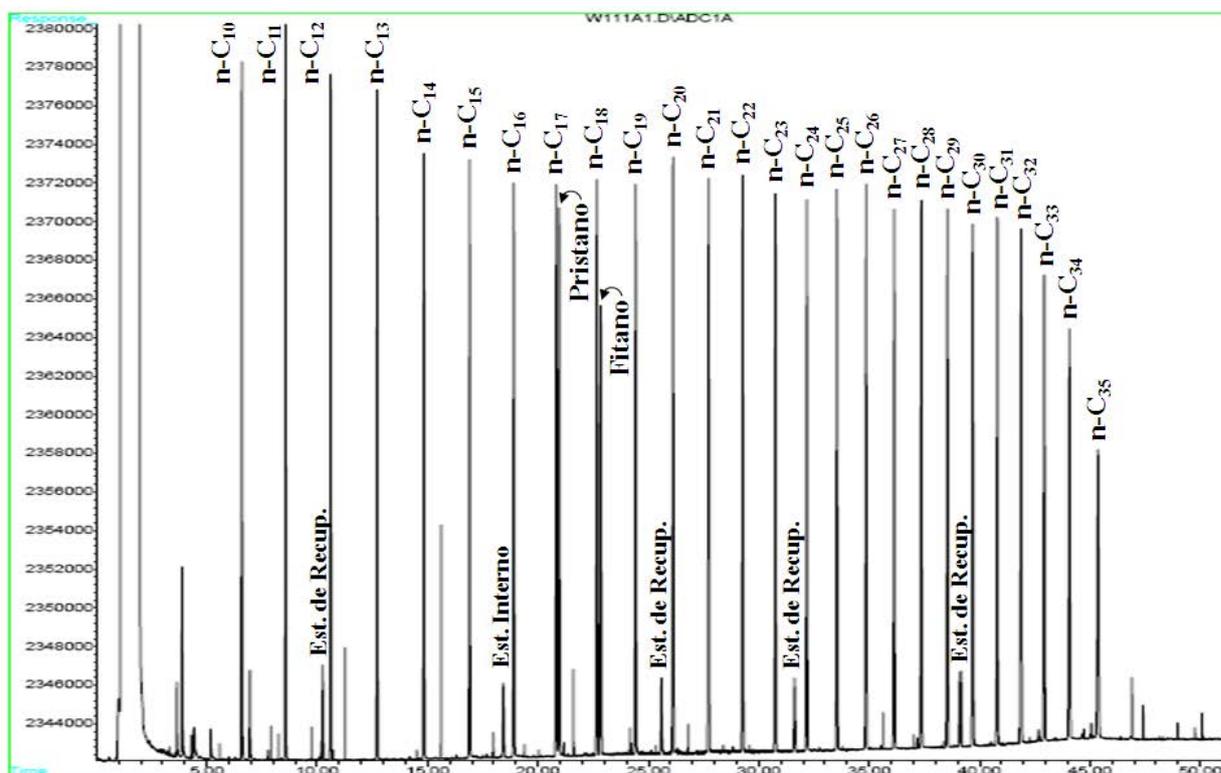


FIG. 3. Hidrocarburos alifáticos por cromatografía de gases y detector de ionización de llama.

donde

FRR es el factor de respuesta relativo;

A_a es el área del compuesto;

A_{re} es el área del estándar de recuperación;

C_a es la concentración del compuesto en ng;

C_{su} es la concentración de estándar de recuperación en ng.

III.9.6.7. Calibración inicial

El criterio de aceptabilidad de la calibración inicial requiere que el desvío estándar relativo, expresado como porcentaje, de los factores de respuesta de cada compuesto en las disoluciones de calibración sea igual o menor al $\pm 15\%$.

Verificación de la calibración inicial

La calibración inicial debe controlarse cada 10–12 muestras o cada 12 horas como máximo mediante la inyección de una disolución preparada para tal fin o reinyección de uno de los niveles intermedios de las disoluciones de calibración. Se considera que la calibración inicial es aún aceptable si las concentraciones determinadas para esta disolución no difieren más que un $\pm 25\%$ del valor nominal.

III.9.6.8. Determinación cuantitativa de los analitos de interés

A partir de la información adquirida por la inyección de los distintos niveles de calibración, se calcula el factor de respuesta relativo promedio para cada compuesto en las disoluciones de calibración. Estos factores de respuesta relativos promedios se utilizarán para los cálculos de concentraciones de los respectivos analitos de interés, mezcla compleja no resuelta. Los factores de respuesta relativos promedios se calculan como:

$$\overline{\text{FRR}} = \left(\frac{1}{n}\right) * \sum_{j=1}^n \text{FRR}_j \quad (12)$$

donde

$\overline{\text{FRR}}$ es el factor de respuesta relativo promedio;
 n es el total de disoluciones de calibración;
 j es el numero de disolución.

Para el cálculo de concentraciones, basado en estos factores de respuestas relativos:

$$C = \left(\frac{A_a C_{re}}{A_{re} \overline{\text{FRR}} M_t} \right) \quad (13)$$

donde

C es la concentración del analito de interés en muestra;
 A_a es el área del compuesto;
 C_{re} es la masa de estándar de recuperación en ng;
 A_{re} es el área del estándar de recuperación;
 $\overline{\text{FRR}}$ es el factor de respuesta relativo promedio;
 M_t tamaño de muestra, en gramos.

Determinación de la Mezcla Compleja No Resuelta (MCNR)

Para la determinación de la concentración de la MCNR en una muestra se utiliza el factor de respuesta promedio de todos los alcanos presentes en las disoluciones de calibración:

$$MCNR = \left(\frac{A_c M_{re}}{A_{re} \overline{FRR} M_t} \right) \quad (14)$$

donde

MCNR	es la concentración de la Mezcla Compleja No Resuelta en muestra;
A_c	es el área corregida del cromatograma, la cual se define como el área total del cromatograma menos el área que corresponde a la deriva por temperatura y el área de todos los picos resueltos, incluyendo los estándares subrogados e internos añadidos a la muestra;
M_{re}	es la cantidad de estándar de recuperación en ng, agregado a la muestra antes de la extracción;
A_{re}	es el área del estándar de recuperación;
\overline{FRR}	es el factor de respuesta relativo promedio;
M_t	es el tamaño de muestra, en gramos.

III.9.6.9. Determinación de hidrocarburos totales

Para la determinación de la concentración de hidrocarburos totales en una muestra (Fig. 4) se utiliza el factor de respuesta promedio de todos los alcanos presentes en las disoluciones de calibración:

$$[HcT] = \left(\frac{A_{tc} M_{re}}{A_{re} \overline{FRR} M_t} \right) \quad (15)$$

donde

[HcT]	es la concentración de hidrocarburos totales en muestra;
A_{tc}	es el área total corregida del cromatograma, la cual se define como el área total del cromatograma menos el área que corresponde a la deriva por temperatura y el área de los estándares subrogados e internos añadidos a la muestra;
M_{re}	es la masa de estándar de recuperación en ng, agregado a la muestra antes de la extracción;
A_{re}	área del estándar de recuperación;
\overline{FRR}	factor de respuesta relativo promedio;
M_t	tamaño de muestra, en gramos.

III.9.6.10. Control de calidad de los cálculos

El cálculo de las concentraciones de los analitos de interés se basa en los factores de respuestas de esos compuestos en las disoluciones de calibración. En general, los sistemas cromatográficos modernos poseen programas de computadoras que permiten realizar estos cálculos de manera casi automática. No obstante, es importante entender los conceptos que se utilizan en estos cálculos para poder reproducir, en forma manual y como un control de calidad adicional, algunos de los resultados producidos por el software.

Es prudente confirmar las concentraciones calculadas con cálculos independientes. Varias concentraciones seleccionadas al azar deben ser confirmadas utilizando, en una hoja de cálculo comercial (Excel o similar), ecuaciones acordes a la calibración y comparadas con los valores reportados. Ambas concentraciones deben coincidir exactamente excepto por errores de redondeo muestra (ver Determinación cuantitativa de plaguicidas clorados por cromatografía de gases con detector de captura electrónica, Control de calidad de los cálculos).

III.9.6.11. Dilución de un extracto

Si la respuesta instrumental de un analito excede la respuesta observada para el mismo compuesto en la disolución de calibración más concentrada, el extracto requiere una dilución apropiada. Para obtener una respuesta dentro de rango de concentraciones utilizadas para calibrar el cromatógrafo se procede a un nuevo agregado de estándares de recuperación antes de reanalizar la muestra (ver Determinación cuantitativa de plaguicidas clorados por cromatografía de gases con detector de captura electrónica, Dilución de un extracto).

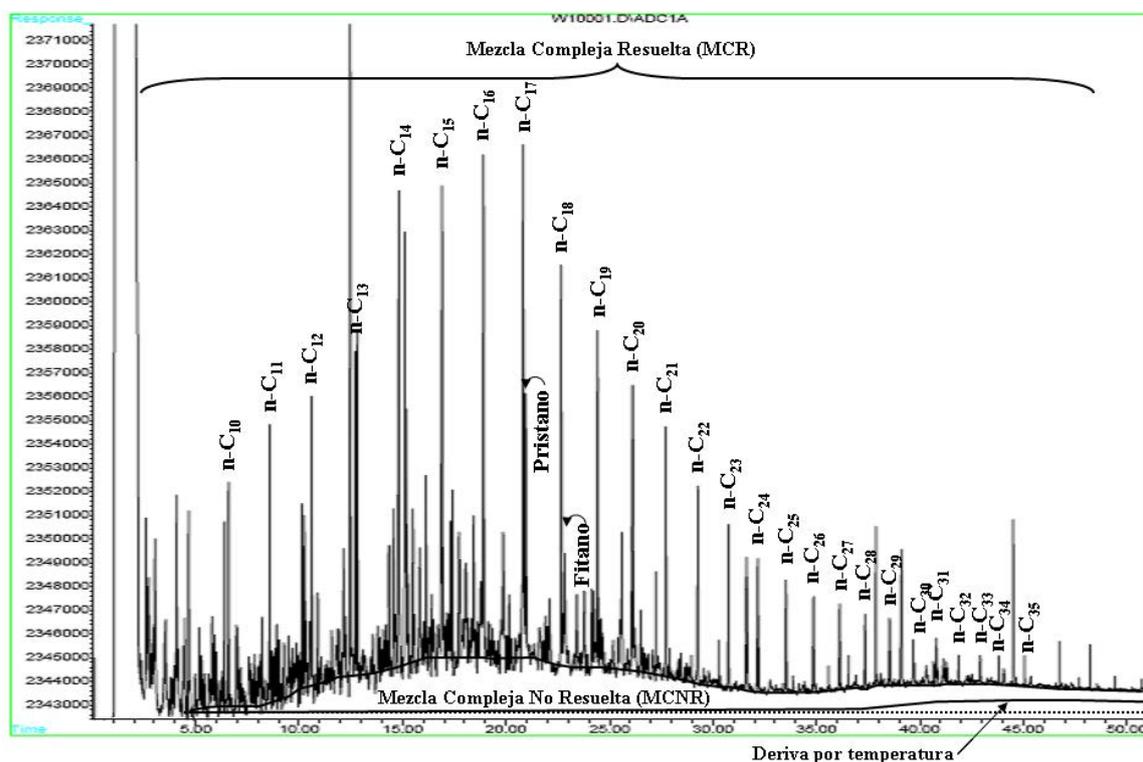


FIG. 4. Hidrocarburos totales por cromatografía de gases y detector de ionización de llama.

III.9.6.12. Mantenimiento del cromatógrafo de gas y detector de ionización de llama

Existen varios pasos simples que pueden ayudar a mantener el buen funcionamiento del cromatógrafo de gas y su detector de ionización de llama. A saber:

- La jeringa debe ser enjuagada con el disolvente apropiado después de cada inyección. Esto puede hacerse manualmente o mediante el uso del inyector automático;
- El sello de inyección (i.e. septum) deberá cambiarse luego de unas cuantas inyecciones, dependiendo del estado de la aguja de la jeringa, para evitar fugas y variaciones en los tiempos de retención;
- Un inserto de vidrio nuevo deberá instalarse apenas se presenten signos de degradación o arrastre de los analitos de interés. En ocasiones es necesario reemplazar, junto con el inserto de vidrio, el sello inferior del inyector (i.e. gold seal);
- Si luego de reemplazar el inserto y sello aún se observa arrastre o disminución en la respuesta de los analitos de interés, será necesario eliminar las primeras dos vueltas de la columna capilar (extremo conectado al puerto de inyección);
- Los tanques de gases de arrastre (helio) y auxiliares (mezcla de argón:metano o nitrógeno) deben cambiarse mucho antes de que estén vacíos para evitar suciedad que pueda incrementar el ruido de base o contaminar columna y/o detector. En general, es preferible cambiar el tanque cuando la presión en el mismo cae por debajo de las 500 psi;
- Todo mantenimiento que se realice al cromatógrafo de gas o detector de ionización de llama, incluyendo cambios de tanques de gases, debe ser registrado en un cuaderno o libro destinado para este fin y dedicado exclusivamente a un solo equipo.

III.9.6.13. Documentación

La documentación que debe recibir el laboratorio junto a los extractos de las muestras a analizar, así como la documentación que el analista debe agregar a la carpeta correspondiente se discute en la Sección correspondiente al análisis de hidrocarburos alifáticos (ver Documentación).

Reporte de concentraciones

Las concentraciones son generalmente reportadas, con tres decimales, como ng g⁻¹ peso seco.

III.9.7. Determinación de hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP) por cromatografía de gases con detector de espectrometría de masas

III.9.7.1. Introducción

Los hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP) pueden ser determinados por cromatografía de gases asociada a espectrometría de masas (GC/MS, por sus siglas en inglés). Esta técnica es capaz de determinar estos compuestos contaminantes a niveles trazas (e.g. ng g⁻¹). El método que se describe es aplicable a extractos de sedimentos luego del tratamiento apropiado. Los HAP de interés para este estudio se limitan a:

Acenafteno	Benzo[<i>k</i>]fluoranteno	Fenantreno	Pireno
Acenaftileno	Benzo[<i>g,h,i</i>]perileno	Fluoranteno	1-metil Naftaleno2-metil
Antraceno	Bifenilo	Fluoreno	Naftaleno
Benzo[<i>a</i>]antraceno	Criseno	Indeno[<i>1,2,3c,d</i>]pireno	2,6-dimetil Naftaleno
Benzo[<i>a</i>]pireno	Dibenzo[<i>a,h</i>]antraceno	Naftaleno	2,3,5-trimetil Naftaleno1-metil
Benzo[<i>e</i>]pireno	Dibenzotiofeno	Perileno	Fenantreno
Benzo[<i>b</i>]fluoranteno			

III.9.7.2. Equipamiento y materiales

Cromatógrafo de gases asociado a un detector de espectrometría de masas

El cromatógrafo de gases debe poseer un inyector tipo “split/splitless” y tener la capacidad de utilizar una columna capilar en horno de temperatura programable asociada a un espectrómetro de masas. La columna capilar más utilizada para el análisis de contaminantes orgánicos posee una 30 m de longitud \times 0,25 mm de diámetro interno y una fase líquida DB-5ms de 0,25 μ m de espesor o similar. Es conveniente contar con un inyector automático con capacidad de realizar inyecciones de 1 a 4 μ L. El programa utilizado para el análisis de hidrocarburos aromáticos policíclicos por cromatografía de gases asociado a un detector de espectrometría de masas es el siguiente:

- Temperatura del inyector: 300°C
- Programa de temperatura del horno:
 - Temperatura inicial: 60°C mantenida por 0 minuto
 - 1^{ra} rampa de calentamiento 15°C min⁻¹
 - Temperatura final 1^{ra} rampa 150°C mantenida por 0 minuto
 - 2^{da} rampa de calentamiento 5°C min⁻¹
 - Temperatura final 2^{da} rampa 220°C mantenida por 0 minuto
 - 3^{ra} rampa de calentamiento 10°C min⁻¹
 - Temperatura final 3^{ra} rampa 300°C mantenida por 10 minuto
- Gas transportador Helio a \sim 1,0 mL min⁻¹
- Tiempo total 38 minutos

Estas condiciones pueden ser modificadas para mejorar el perfil cromatográfico si es necesario.

III.9.7.3. Calibración del cromatógrafo

La calibración del cromatógrafo de gases para el análisis de hidrocarburos aromáticos policíclicos debe realizarse utilizando uno de los métodos indicados anteriormente (ver Control de calidad de los análisis, *Calibración del instrumento*). Debido a la marcada linealidad del detector de espectrometría de masas, es aconsejable calibrar el instrumento utilizando factores de respuesta relativos o una regresión de ajuste lineal.

III.9.7.4. Análisis cromatográfico de las muestras

Como se ha mencionado, las muestras dedicadas al control de calidad (e.g. blanco, muestra en duplicado, muestra enriquecida, y material de referencia) y muestras que componen el lote analítico son analizadas como una sola secuencia analítica con las disoluciones de calibración o de control de la calibración (ver Control de calidad analítica, *Calibración inicial del instrumento y Verificación del mantenimiento de la calibración inicial*). Antes de comenzar la secuencia analítica, se debe correr un blanco del instrumento para comprobar que el sistema está libre de contaminantes. El análisis de las muestras se hace inyectando de 1 a 4 μ L de los extractos.

Es importante destacar que las muestras dedicadas al control de calidad dentro de un lote analítico deben ser evaluadas en conjunto ya que el incumplimiento de los criterios preestablecidos en una de esas muestras no significa necesariamente el rechazo de todas las muestras en esa extracción.

III.9.7.5. Identificación cualitativa de los analitos de interés

Para identificar un pico como correspondiente a un analito de interés se deben seguir el criterio discutido anteriormente (ver: Control de calidad de los análisis, Identificación cualitativa de compuestos de interés). La Fig. 5 muestra el orden de elución y respuesta relativa de hidrocarburos aromáticos policíclicos y estándares de recuperación e interno; la concentración de cada analito es 500 y 100 ng/mL, respectivamente. Adicionalmente, la determinación de múltiples iones individuales (e.g. ion primario y 1 ó 2 iones de confirmación; Cuadro III.2) que presentan una respuesta adecuada y pocas posibilidades de interferencias se deben ajustar a los siguientes criterios de calidad:

- Las masas características de cada analito deben mostrar su máxima intensidad en al mismo ciclo de lectura (barrido de espectro) o separados por un ciclo como máximo;
- Las intensidades relativas de los iones seleccionados para el analito de interés deben corresponder a los valores obtenidos en el mismo GC/MS con una tolerancia máxima de $\pm 20\%$;

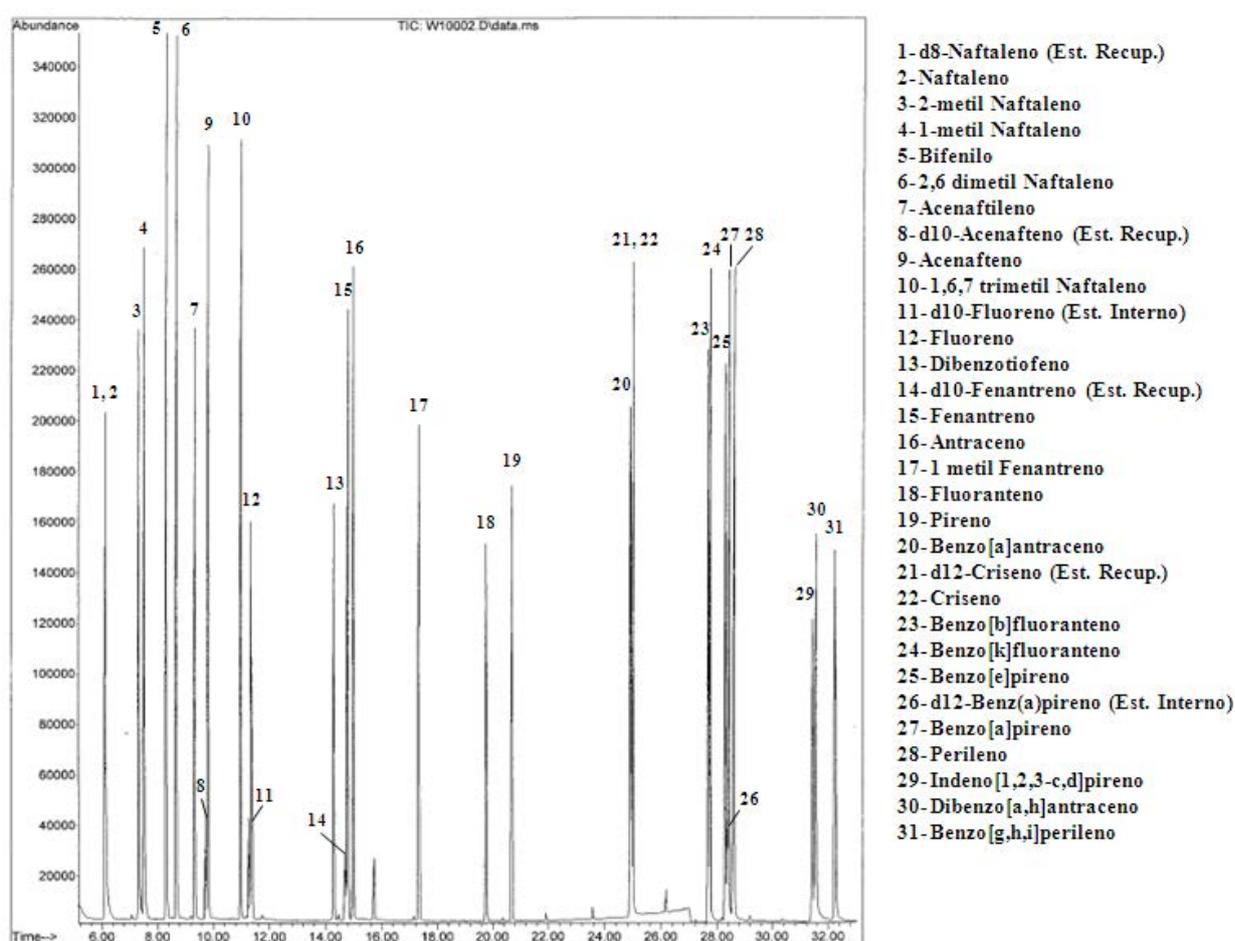


FIG. 5. Hidrocarburos aromáticos policíclicos por cromatografía de masas.

III.9.7.6. Calibración inicial, verificación de la calibración y determinación cuantitativa de los analitos de interés

El detector de espectrometría de masas es estable y presenta un comportamiento lineal por lo que es posible calibrar el cromatógrafo utilizando un ajuste de regresión lineal o el uso de factores de respuestas relativos. El factor de respuesta de cada compuesto, relativo a su estándar de recuperación, se calcula a partir de la información adquirida de la inyección de los distintos niveles de calibración mediante la siguiente ecuación:

$$\text{FRR} = \left(\frac{A_a}{C_a} \right) \left(\frac{A_{su}}{C_{su}} \right) \quad \text{ó} \quad \text{FRR} = \left(\frac{A_a C_{re}}{A_{re} C_a} \right) \quad (16)$$

donde:

FFR es el factor de respuesta relativo;

A_a es el área del ión de cuantificación correspondiente al compuesto;

A_{re} es el área del ión de cuantificación correspondiente al estándar de recuperación;

C_a es la concentración del compuesto en ng;

C_{su} es la concentración de estándar de recuperación en ng.

III.9.7.7. Calibración inicial

El criterio de aceptabilidad de la calibración inicial requiere que la desviación estándar relativa, expresada como porcentaje, de los factores de respuesta de cada compuesto en las disoluciones de calibración sea igual o menor al $\pm 15\%$.

Verificación de la calibración inicial

La calibración inicial debe controlarse cada 10–12 muestras o cada 12 horas como máximo mediante la inyección de una disolución preparada para tal fin o reinyección de uno de los niveles intermedios de las disoluciones de calibración. Se considera que la calibración inicial es aún aceptable si las concentraciones determinadas para esta disolución no difieren más que un $\pm 25\%$ del valor nominal.

III.9.7.8. Determinación cuantitativa de los analitos de interés

A partir de la información adquirida por la inyección de los distintos niveles de calibración, se calcula el factor de respuesta relativo promedio para cada compuesto en las disoluciones de calibración. Estos factores de respuesta relativos promedios se utilizarán para los cálculos de concentraciones de los respectivos analitos de interés, mezcla compleja no resuelta. Los factores de respuesta relativos promedios se calculan como:

$$\overline{\text{FRR}} = \left(\frac{1}{n} \right) * \sum_{j=1}^n \text{FRR}_j \quad (17)$$

donde

$\overline{\text{FRR}}$ es el factor de respuesta relativo promedio;

n es el total de disoluciones de calibración;

j es el número de disolución.

Para el cálculo de concentraciones, basado en estos factores de respuestas relativos:

$$C = \left(\frac{A_a C_{re}}{A_{re} \overline{FRR} M_t} \right) \quad (18)$$

donde:

- C es la concentración del analito de interés en muestra;
 A_a es el área del ión de cuantificación correspondiente al compuesto;
 C_{re} es la masa de estándar de recuperación en ng;
 A_{re} es el área del ión de cuantificación correspondiente al estándar de recuperación;
 \overline{FRR} es el factor de respuesta relativo promedio;
 M_t es el tamaño de muestra, en gramos.

CUADRO III.2. IONES DE CUANTIFICACIÓN Y CONFIRMACIÓN SELECCIONADOS PARA LA DETERMINACIÓN DE HIDROCARBUROS AROMÁTICOS POLICÍCLICOS Y ESTÁNDARES CORRESPONDIENTES POR ESPECTROMETRÍA DE MASAS

Analito	Ión de Cuantificación	Ión de Confirmación	Abundancia Relativa (%) del Ión de Confirmación ¹
d8-Naftaleno (Est. de Recuperación)	136	134	15
Naftaleno	128	127	15
1-metil Naftaleno	142	141	80
2-metil Naftaleno	142	141	80
2,6-dimetil Naftaleno	156	141	75
2,3,5-trimetil Naftaleno	170	155	95
Bifenilo	154	153	35
Acenaftileno	152	153	15
d10-Acenafteno (Est. de Recuperación)	164	162	95
Acenafteno	154	153	100
d10-Fluoreno (Est. Interno)	176	174	85
Fluoreno	166	165	95
Dibenzotiofeno	184	152	15
d10-Fenantreno (Est. de Recuperación)	188	184	15
Fenantreno	178	176	20
1-metil Fenantreno	192	191	55
Antraceno	178	176	20
Fluoranteno	202	101	15
Pireno	202	101	15
Benzo[a]antraceno	228	226	20
d12-Criseno (Est. de Recuperación)	240	236	30
Criseno	228	226	30
Benzo[b]fluoranteno	252	253	30
Benzo[k]fluoranteno	252	253	30
Benzo[e]pireno	252	253	30
d12-Benz[a]pireno (Est. Interno)	264	260	20
Benzo[a]pireno	252	253	30
Perileno	252	253	20
Indeno[1,2,3-c,d]pireno	276	277	25
Dibenzo[a,h]antraceno	278	279	25
Benzo[g,h,i]perileno	276	277	25

¹ Las Abundancias Relativas son mostradas como referencia únicamente.

III.9.7.9. Control de calidad de los cálculos

El cálculo de las concentraciones de los analitos de interés se basa en los factores de respuestas de esos compuestos en las disoluciones de calibración. En general, los sistemas cromatográficos modernos poseen programas de computadoras que permiten realizar estos cálculos de manera casi automática. No obstante es importante entender los conceptos que se utilizan en estos cálculos para poder reproducir, en forma manual y como un control de calidad adicional, algunos de los resultados producidos por el software. Es prudente confirmar las concentraciones calculadas con cálculos independientes. Varias concentraciones seleccionadas al azar deben ser confirmadas utilizando, en una hoja de cálculo comercial (Excel o similar), ecuaciones acorde a la calibración y comparadas con los valores reportados. Ambas concentraciones deben coincidir exactamente excepto por errores de redondeo (ver Determinación cuantitativa de plaguicidas clorados por cromatografía de gases con detector de captura electrónica, Control de calidad de los cálculos).

III.9.7.10. Dilución de un extracto

Si la respuesta instrumental de un analito excede la respuesta observada para el mismo compuesto en la disolución de calibración más concentrada, el extracto requiere una dilución apropiada. Para obtener una respuesta dentro de rango de concentraciones utilizadas para calibrar el cromatógrafo se procede a un nuevo agregado de estándares de recuperación antes de reanalizar la muestra (ver Determinación cuantitativa de plaguicidas clorados por cromatografía de gases con detector de captura electrónica, Dilución de un extracto).

III.9.7.11. Mantenimiento del cromatógrafo de gases y detector de espectrometría de masas

Existen varios pasos simples que pueden ayudar a mantener el buen funcionamiento del cromatógrafo de gas y su espectrómetro de masas. Para el buen mantenimiento del cromatógrafo de gases se debe:

- Enjuagar la jeringa con el disolvente apropiado después de cada inyección. Esto puede hacerse manualmente o mediante el uso del inyector automático;
- Cambiar el sello de inyección (i.e. septum) luego de unas cuantas inyecciones, dependiendo del estado de la aguja de la jeringa, para evitar fugas y variaciones en los tiempos de retención;
- Instalar un inserto de vidrio nuevo apenas se presenten signos de degradación o arrastre de los analitos de interés, especialmente los hidrocarburos aromáticos policíclicos más pesados. Es conveniente utilizar un inserto de vidrio con lana de vidrio en su interior para favorecer la volatilización, y su entrada en columna, de los hidrocarburos aromáticos policíclicos más pesados;
- En ocasiones, reemplazar, junto con el inserto de vidrio, el sello inferior del inyector (i.e. gold seal) para evitar degradación o arrastre de los picos. Si luego de reemplazar el inserto y sello aún se observa degradación, arrastre o disminución en la respuesta de los analitos de interés, será necesario cortar las primeras dos vueltas de la columna capilar (extremo conectado al puerto de inyección);
- Cambiar el tanque del gas de arrastre (helio) antes de que esté vacío para evitar suciedad que pueda incrementar el ruido de base o contaminar columna y/o detector. En general, es preferible cambiar el tanque cuando la presión en el mismo cae por debajo de las 500 psi;
- Para el buen mantenimiento del detector de espectrometría de masas se debe:

- Limpiar la fuente, incluyendo el reemplazo del filamento de emisión, cada vez que sea necesario;
- Renovar el aceite de las bombas de vacío anualmente o más frecuentemente si es necesario;
- Controlar que no existan pérdidas de vacío luego de que se abra y limpie el espectrómetro de masas.

En general, todo mantenimiento que se realice al cromatógrafo de gas o espectrómetro de masas, incluyendo cambios de tanques de gases, debe ser registrado en un cuaderno o libro destinado para este fin y dedicado exclusivamente a un solo equipo.

III.9.7.12. Documentación

La documentación que debe recibir el laboratorio junto a los extractos de las muestras a analizar, así como la documentación que el analista debe agregar a la carpeta correspondiente se discute en la Sección correspondiente al análisis de plaguicidas clorados (ver Documentación).

Reporte de concentraciones

Las concentraciones son generalmente reportadas, con tres decimales, como ng g⁻¹ peso seco.

III.9.8. Preparación de las disoluciones de siembra (estándares de recuperación, internos y enriquecimiento)

Por conveniencia, las disoluciones de los estándares de recuperación, internos y de siembra se preparan de manera tal que la concentración final de los mismos en los extractos de las muestras y muestras de control de calidad son comparables a los niveles presentes en las disoluciones de calibración. En el caso de las muestras enriquecidas, una recuperación del 100% de los analitos sembrados dará una respuesta de detector similar al nivel 3 de calibración.

III.9.8.1. Estándares de Recuperación

Los estándares de recuperación se agregan a todas las muestras a analizar y de control de calidad (e.g. blanco, muestra duplicada, blanco enriquecido, muestra enriquecida, muestra enriquecida en duplicado, material de referencia) antes de su procesamiento por el laboratorio. El uso de estándares de recuperación en los cálculos permite compensar por pérdidas sufridas durante el procesamiento de la batería de muestras por el laboratorio y es independiente del volumen final del extracto o volumen del mismo inyectado en el cromatógrafo.

III.9.8.2. Estándares Internos

Los estándares internos se agregan a todos los extractos a analizar y de control de calidad (e.g. blanco, muestra duplicada, blanco enriquecido, muestra enriquecida, muestra enriquecida en duplicado, material de referencia) antes de su análisis por cromatografía. El uso de estándares interno permite conocer la magnitud de las pérdidas sufridas durante el procesamiento de la batería de muestras en el laboratorio y es independiente del volumen final del extracto y volumen del mismo inyectado en el cromatógrafo.

III.9.8.3. Disoluciones de Enriquecimientos de Analitos

Estas disoluciones se usarán para enriquecer aquellas muestras destinadas a evaluar la recuperación de los compuestos de interés por el método utilizado sin (e.g. blanco enriquecido) y con (e.g. muestra enriquecida, muestra enriquecida en duplicado) el efecto del sedimento que se extrae. La comparación de muestra enriquecida con su duplicado permite no sólo evaluar la capacidad del laboratorio para recuperar y determinar concentraciones en presencia de la matriz estudiada sino también la habilidad del mismo para reproducir resultados.

III.9.8.4. Plaguicidas clorados

Estándares de recuperación (ULTRAScientific, CUS-9738)

Analito	CAS#	Concentración
4,4'-dibromooctafluorobifenilo	010386-84-2	200,0±1,0 µg/mL
2,2',4,5',6-pentaclorobifenilo (PCB 103)	060145-21-3	200,0±1,0 µg/mL
2,2',3,3',4,5,5',6-octaclorobifenilo (PCB 198)	068194-17-2	200,0±1,0 µg/mL

Estándar interno (~1 gramo de droga sólida)

Analito	CAS#	Concentración
2,4,5,6-tetracloro-m-xileno (TCMX)	010386-84-2	NA

Plaguicidas clorados (ULTRAScientific, CUS-9736)

Analito	CAS#	Concentración
Aldrin	000309-00-2	201,0±1,0 µg/mL
Alpha-clordano	005103-71-9	201,0±1,0 µg/mL
Gamma-clordano	005103-74-2	201,0±1,0 µg/mL
Dieldrin	000060-57-1	201,0±1,0 µg/mL
Endosulfan I	000959-98-8	201,0±1,0 µg/mL
Endosulfan II	033213-65-9	201,0±1,0 µg/mL
Endosulfan sulfato	001031-07-8	201,0±1,0 µg/mL
Endrin	00072-20-8	201,0±1,0 µg/mL
Endrin aldehído	007421-93-4	201,0±1,0 µg/mL
Alpha-HCH	000319-84-6	201,0±1,0 µg/mL
Beta-HCH	000319-85-7	201,0±1,0 µg/mL
Delta-HCH	000319-86-8	201,0±1,0 µg/mL
Gamma-HCH	000058-89-9	201,0±1,0 µg/mL
Heptacloro	000076-44-8	201,0±1,0 µg/mL
Heptacloro epóxido	001024-57-3	201,0±1,0 µg/mL
Metoxicloro	00072-43-5	201,0±1,0 µg/mL
Cis-nonacloro	005103-73-1	201,0±1,0 µg/mL
Trans-nonacloro	039765-80-5	201,0±1,0 µg/mL
2,4'-DDD	000053-19-0	201,0±1,0 µg/mL
2,4'-DDE	003424-82-6	201,0±1,0 µg/mL
2,4'-DDT	000789-02-6	201,0±1,0 µg/mL
4,4'-DDD	000072-54-8	201,0±1,0 µg/mL
4,4'-DDE	000072-55-9	201,0±1,0 µg/mL
4,4'-DDT	000050-29-3	201,0±1,0 µg/mL
Endrin cetona	053494-70-5	201,0±1,0 µg/mL

III.9.8.5. Plaguicidas Clorados por GC/ECD

Disoluciones de Calibración

Soluciones de Calibración	Volumen de disolución de analitos CUS-9736 (200 µg/mL)	Volumen de disolución de estándares de recuperación CUS-9738 (200 µg/mL)	Volumen de disolución de estándar interno (Sólido) (2000 µg/mL)	Volumen de solvente	Volumen Final
Nivel 1	0,050 mL (a)	1,000 mL (b)	0,500 mL (c)	6,450 mL	10,000 mL
Nivel 2	0,200 mL (a)	1,000 mL (b)	0,500 mL (c)	6,300 mL	10,000 mL
Nivel 3	4,000 mL (a)	0,050 mL	5,000 mL (c)	90,700 mL	100,000 mL
Nivel 4	0,800 mL (a)	1,000 mL (b)	0,500 mL (c)	5,700 mL	10,000 mL
Nivel 5	2,000 mL (a)	1,000 mL (b)	0,500 mL (c)	4,500 mL	10,000 mL

(a) Requiere dilución previa de 1:200 (e.g. 0,050 mL de disolución llevados exactamente a 10 mL).

(b) Requiere dilución previa de 1:200 (e.g. 0,050 mL de disolución llevados exactamente a 10 mL).

(c) Requiere dilución previa de 1:1000 (e.g. 0,010 mL de disolución llevados exactamente a 10 mL).

Note que la solución de calibración a nivel 3 se prepara en mayor volumen para ser utilizada cada vez que se requiera controlar la calibración del cromatógrafo. Las concentraciones resultantes para los analitos, estándares de recuperación y estándar interno, en cada solución de calibración, son las que se indican a continuación:

Soluciones de Calibración	Concentración de cada analito (ng/mL)	Concentración de cada estándar de recuperación (ng/mL)	Concentración del estándar interno (ng/mL)
Nivel 1	5	100	100
Nivel 2	20	100	100
Nivel 3	40	100	100
Nivel 4	80	100	100
Nivel 5	200	100	100

Note que los niveles de concentración de las soluciones de calibración, especialmente el “Nivel 1”, dependen del tipo de analito, método y sensibilidad del equipo utilizado por lo que pueden ser ajustados según sea necesario.

III.9.8.6. Disoluciones de Fortificación (Siembra)

Estas disoluciones de fortificación o siembra se deben preparar a partir de las soluciones recibidas. Se recomienda la preparación, concentración de fortificación o siembra y uso de las distintas disoluciones como sigue:

Estándar de recuperación:

$$[\text{Estándar de recuperación}]_{(\text{ng/mL})} = 200 \mu\text{g/mL} * \left(\frac{1000 \text{ ng/mL}}{1 \mu\text{g/mL}} \right) * \left(\frac{0,250 \text{ mL}}{50 \text{ mL}} \right) = 1000 \text{ ng/mL}$$

y solución de uso:

$$[\text{Estándar de recuperación}]_{(\text{ng/mL})} = 1000 \text{ ng/mL} * \left(\frac{0,100 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} \right) = 100 \text{ ng/mL}$$

Estándar interno:

$$[\text{Estándar Interno}]_{(\text{ng/mL})} = 2000 \mu\text{g/mL} * \left(\frac{1000 \text{ ng/mL}}{1 \mu\text{g/mL}} \right) * \left(\frac{0,025 \text{ mL}}{50 \text{ mL}} \right) = 1000 \text{ ng/mL}$$

y solución de uso:

$$[\text{Estándar Interno}]_{(\text{ng/mL})} = 1000 \text{ ng/mL} * \left(\frac{0,100 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} \right) = 100 \text{ ng/mL}$$

Analitos:

$$[\text{Analito}]_{(\text{ng/mL})} = 200 \text{ } \mu\text{g/mL} * \left(\frac{1000 \text{ ng/mL}}{1 \text{ } \mu\text{g/mL}} \right) * \left(\frac{0,100 \text{ mL}}{50 \text{ mL}} \right) = 400 \text{ ng/mL}$$

y solución de uso:

$$[\text{Analito}]_{(\text{ng/mL})} = 400 \text{ ng/mL} * \left(\frac{0,100 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} \right) = 40 \text{ ng/mL}$$

III.9.8.7. Hidrocarburos alifáticos y totales

Estándares de recuperación (Absolute Standards # 72056, 72069 y 72072, respectivamente)

Analito	CAS#	Concentración
n-Dodecano-d26		1000 $\mu\text{g/mL}$
n-Eicosano-d42		1000 $\mu\text{g/mL}$
n-Tetracosano-d50		1000 $\mu\text{g/mL}$

Estándar interno (Absolute Standards #72065)

Analito	CAS#	Concentración
n-Hexadecano-d34		1000 $\mu\text{g/mL}$

Hidrocarburos alifáticos (ULTRScientific Custom Standard)

Analito	CAS#	Concentración	Analito	CAS#	Concentración
n-Decano	000124-18-5	200 $\mu\text{g/mL}$	n-Tetracosano	000646-31-1	200 $\mu\text{g/mL}$
n-Undecano	001120-21-4	200 $\mu\text{g/mL}$	n-Pentacosano	000629-99-2	200 $\mu\text{g/mL}$
n-Dodecano	000112-40-3	200 $\mu\text{g/mL}$	n-Hexacosano	000630-01-3	200 $\mu\text{g/mL}$
n-Tridecano	000629-50-5	200 $\mu\text{g/mL}$	n-Heptacosano	000593-49-7	200 $\mu\text{g/mL}$
n-Tetradecano	000629-59-4	200 $\mu\text{g/mL}$	n-Octacosano	000630-02-4	200 $\mu\text{g/mL}$
n-Pentadecano	000629-62-9	200 $\mu\text{g/mL}$	n-Nonacosano	000630-03-5	200 $\mu\text{g/mL}$
n-Hexadecano	000544-76-3	200 $\mu\text{g/mL}$	n-Triacontano	000638-68-6	200 $\mu\text{g/mL}$
n-Heptadecano	000629-78-7	200 $\mu\text{g/mL}$	n-Hentriacontano	000630-04-6	200 $\mu\text{g/mL}$
n-Octadecano	000593-45-3	200 $\mu\text{g/mL}$	n-Dotriacontano	000544-85-4	200 $\mu\text{g/mL}$
n-Nonadecano	000629-92-5	200 $\mu\text{g/mL}$	n-Tritriacontano	000630-05-7	200 $\mu\text{g/mL}$
n-Eicosano	000112-95-8	200 $\mu\text{g/mL}$	n-Tetratriacontano	014167-59-0	200 $\mu\text{g/mL}$
n-Heneicosano	000629-94-7	200 $\mu\text{g/mL}$	n-Pentatriacontano	000630-07-9	200 $\mu\text{g/mL}$
n-Docosano	000629-97-0	200 $\mu\text{g/mL}$	Pristano	001921-70-6	200 $\mu\text{g/mL}$
n-Tricosano	000638-67-5	200 $\mu\text{g/mL}$	Fitano	000638-36-8	200 $\mu\text{g/mL}$

III.9.8.8. Hidrocarburos alifáticos y totales por GC/FID

Disoluciones de Calibración:

Soluciones de Calibración	Volumen de disolución de analitos (200 µg/mL)	Volumen de disolución de estándares de recuperación e interno (1000 µg/mL)	Volumen de solvente	Volumen Final
Nivel 1	1,000 mL (a)	0,500 mL (b)	8,500 mL	10,000 mL
Nivel 2	5,000 mL (a)	0,500 mL (b)	4,500 mL	10,000 mL
Nivel 3	0,625 mL	1,250 mL (b)	23,125 mL	25,000 mL
Nivel 4	0,750 mL	0,500 mL (b)	8,500 mL	10,000 mL
Nivel 5	2,000 mL	0,500 mL (b)	7,000 mL	10,000 mL

(a) Requiere dilución previa de 1:100 (e.g. 0,100 mL de disolución llevados exactamente a 10 mL).

(b) Requiere dilución previa de 1:25 de cada una de las soluciones en un mismo matraz (e.g. 0,200 mL de cada disolución llevados exactamente a 5 mL).

Note que la solución de calibración a nivel 3 se prepara en mayor volumen para ser utilizada cada vez que se requiera controlar la calibración del cromatógrafo. Las concentraciones resultantes para los analitos, estándares de recuperación y estándar interno, en cada solución de calibración, son las que se indican a continuación:

Soluciones de Calibración	Concentración de cada analito (ng/mL)	Concentración de cada estándar de recuperación (ng/mL)	Concentración del estándar interno (ng/mL)
Nivel 1	200	2000	2000
Nivel 2	1000	2000	2000
Nivel 3	5000	2000	2000
Nivel 4	15000	2000	2000
Nivel 5	40000	2000	2000

Note que los niveles de concentración de las soluciones de calibración, especialmente el “Nivel 1”, dependen del tipo de analito, método y sensibilidad del equipo utilizado por lo que pueden ser ajustados según sea necesario.

Disoluciones de Fortificación (Siembra)

Estas disoluciones de fortificación o siembra se deben preparar a partir de las soluciones recibidas. Se recomienda la preparación, concentración de fortificación o siembra y uso de las distintas disoluciones como sigue:

Estándares de recuperación:

$$[\text{Estándar de recuperación}]_{(\text{ng/mL})} = 1000 \mu\text{g/mL} * \left(\frac{1000 \text{ ng/mL}}{1 \mu\text{g/mL}} \right) * \left(\frac{0,500 \text{ mL}}{25 \text{ mL}} \right) = 20000 \text{ ng/mL}$$

y solución de uso:

$$[\text{Estándar de recuperación}]_{(\text{ng/mL})} = 20000 \text{ ng/mL} * \left(\frac{0,100 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} \right) = 2000 \text{ ng/mL}$$

Estándar interno:

$$[\text{Estándar Interno}]_{(\text{ng/mL})} = 1000 \mu\text{g/mL} * \left(\frac{1000 \text{ ng/mL}}{1 \mu\text{g/mL}} \right) * \left(\frac{0,500 \text{ mL}}{25 \text{ mL}} \right) = 20000 \text{ ng/mL}$$

y solución de uso:

$$[\text{Estándar Interno}]_{(\text{ng/mL})} = 20000 \text{ ng/mL} * \left(\frac{0,100 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} \right) = 2000 \text{ ng/mL}$$

Analitos

$$[\text{Analito}]_{(\text{ng/mL})} = 200 \mu\text{g/mL} * \left(\frac{1000 \text{ ng/mL}}{1 \mu\text{g/mL}} \right) * \left(\frac{1,250 \text{ mL}}{5 \text{ mL}} \right) = 50000 \text{ ng/mL}$$

y solución de uso:

$$[\text{Analito}]_{(\text{ng/mL})} = 50000 \text{ ng/mL} * \left(\frac{0,100 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} \right) = 5000 \text{ ng/mL}$$

III.9.8.9. Hidrocarburos aromáticos

Estándares de recuperación (ULTRAScientific, CUS-9737)

Analito	CAS#	Concentración
d8-Naftaleno	001146-65-2	1002±5 µg/mL
d10-Acenafteno	015067-26-2	1000±5 µg/mL
d10-Fenantreno	001517-22-2	1000±5 µg/mL
d12-Criseno	001719-03-5	1000±5 µg/mL

Estándares internos (ULTRAScientific, CUS-9739)

Analito	CAS#	Concentración
d10-Fluoreno	081103-79-9	1000±5 µg/mL
d12-Benz[a]pireno	063466-71-7	1000±5 µg/mL

Hydrocarbons aromaticos policiclicos (ULTRAScientific, CUS-9735)

Analito	CAS#	Concentración
Acenafteno	000083-32-9	2008±10 µg/mL
Acenaftileno	000208-96-8	2008±10 µg/mL
Antraceno	000120-12-7	2008±10 µg/mL
Benzo[<i>a</i>]antraceno	000056-55-3	2008±10 µg/mL
Benzo[<i>a</i>]pireno	000050-32-8	2008±10 µg/mL
Benzo[<i>b</i>]fluoranteno	000205-99-2	2008±10 µg/mL
Benzo[<i>e</i>]pireno	000192-97-2	2008±10 µg/mL
Benzo[<i>g,h,i</i>]perileno	000191-24-2	2008±10 µg/mL
Benzo[<i>k</i>]fluoranteno	000207-08-9	2008±10 µg/mL
Bifenilo	000092-52-4	2008±10 µg/mL
Criseno	000218-01-9	2008±10 µg/mL
Dibenzo[<i>a,h</i>]antraceno	000053-70-3	2008±10 µg/mL
Dibenzotiofeno	000132-65-0	2008±10 µg/mL
Fluoranteno	000206-44-0	2008±10 µg/mL
Fluoreno	000086-73-7	2008±10 µg/mL
Indeno[<i>1,2,3-c,d</i>]pireno	000193-39-5	2008±10 µg/mL
Naftaleno	000091-20-3	2008±10 µg/mL
1-metil Naftaleno	000090-12-0	2008±10 µg/mL
2-metil Naftaleno	000091-57-6	2008±10 µg/mL
2,6 dimetil Naftaleno	000581-42-0	2008±10 µg/mL
1,6,7 trimetil Naftaleno	002245-38-7	2008±10 µg/mL
Perileno	000198-55-0	2008±10 µg/mL
Fenantreno	000085-01-8	2008±10 µg/mL
1 metil Fenantreno	000832-69-9	2008±10 µg/mL
Pireno	000129-00-0	2008±10 µg/mL

III.9.8.10. Hidrocarburos aromaticos por GC/MS

Disoluciones de Calibración

Soluciones de Calibración	Volumen de disolución de analitos CUS-9735 (2000 µg/mL)	Volumen de disolución de estándares de recuperación CUS-9737 (1000 µg/mL)	Volumen de disolución de estándares internos CUS-9739 (1000 µg/mL)	Volumen de solvente (mL)	Volumen Final (mL)
Nivel 1	0,100 mL (a)	1,000 mL (b)	1,000 mL (b)	96,900 mL	100,000 mL
Nivel 2	0,500 mL (a)	1,000 mL (b)	1,000 mL (b)	96,500 mL	100,000 mL
Nivel 3	1,250 mL (a)	1,000 mL (b)	1,000 mL (b)	95,750 mL	100,000 mL
Nivel 4	2,500 mL (a)	1,000 mL (b)	1,000 mL (b)	94,500 mL	100,000 mL
Nivel 5	5,000 mL (a)	1,000 mL (b)	1,000 mL (b)	92,000 mL	100,000 mL

(a) Requiere dilución previa de 1:100 (e.g. 0,100 mL de disolución llevados exactamente a 10 mL).

(b) Requiere dilución previa de 1:100 (e.g. 0,100 mL de disolución llevados exactamente a 10 mL).

Las concentraciones resultantes para los analitos, estándares de recuperación y estándares internos, en cada solución de calibración, son las que se indican a continuación:

Soluciones de Calibración	Concentración de cada analito (ng/mL)	Concentración de cada estándar de recuperación (ng/mL)	Concentración de cada estándar interno (ng/mL)
Nivel 1	20	100	100
Nivel 2	100	100	100
Nivel 3	250	100	100
Nivel 4	500	100	100
Nivel 5	1000	100	100

Note que los niveles de concentración de las soluciones de calibración, especialmente el “Nivel 1”, dependen del tipo de analito, método y sensibilidad del equipo utilizado por lo que pueden ser ajustados según sea necesario.

Disoluciones de fortificación (siembra)

Estas disoluciones de fortificación o siembra se deben preparar a partir de las soluciones recibidas. Se recomienda la preparación, concentración de fortificación o siembra y uso de las distintas disoluciones como sigue:

Estándares de recuperación:

$$[\text{Estándar de recuperación}]_{(\text{ng/mL})} = 1000 \mu\text{g/mL} * \left(\frac{1000 \text{ ng/mL}}{1 \mu\text{g/mL}} \right) * \left(\frac{0,100 \text{ mL}}{100 \text{ mL}} \right) = 1000 \text{ ng/mL}$$

y solución de uso:

$$[\text{Estándar de recuperación}]_{(\text{ng/mL})} = 1000 \text{ ng/mL} * \left(\frac{0,100 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} \right) = 100 \text{ ng/mL}$$

Estándares internos:

$$[\text{Estándar Interno}]_{(\text{ng/mL})} = 1000 \mu\text{g/mL} * \left(\frac{1000 \text{ ng/mL}}{1 \mu\text{g/mL}} \right) * \left(\frac{0,100 \text{ mL}}{100 \text{ mL}} \right) = 1000 \text{ ng/mL}$$

y solución de uso:

$$[\text{Estándar Interno}]_{(\text{ng/mL})} = 1000 \text{ ng/mL} * \left(\frac{0,100 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} \right) = 100 \text{ ng/mL}$$

Analitos:

$$[\text{Analito}]_{(\text{ng/mL})} = 2000 \mu\text{g/mL} * \left(\frac{1000 \text{ ng/mL}}{1 \mu\text{g/mL}} \right) * \left(\frac{0,125 \text{ mL}}{100 \text{ mL}} \right) = 2500 \text{ ng/mL}$$

y solución de uso:

$$[\text{Analito}]_{(\text{ng/mL})} = 2500 \text{ ng/mL} * \left(\frac{0,100 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} \right) = 250 \text{ ng/mL}$$

III.9.8.11. Hidrocarburos aromáticos por GC/FID

Disoluciones de Calibración

Soluciones de Calibración	Volumen de disolución de analitos CUS-9735 (2000 µg/mL)	Volumen de disolución de estándares de recuperación CUS-9737 (1000 µg/mL)	Volumen de disolución de estándares internos CUS-9739 (1000 µg/mL)	Volumen de solvente (mL)	Volumen Final (mL)
Nivel 1	0,100 mL (a)	2,000 mL (b)	2,000 mL (b)	7,900 mL	10,000 mL
Nivel 2	0,500 mL (a)	2,000 mL (b)	2,000 mL (b)	7,500 mL	10,000 mL
Nivel 3	0,250 mL	0,200 mL	0,200 mL	99,350 mL	100,000 mL
Nivel 4	0,100 mL	2,000 mL (b)	2,000 mL (b)	7,900 mL	10,000 mL
Nivel 5	0,250 mL	2,000 mL (b)	2,000 mL (b)	7,750 mL	10,000 mL

(a) Requiere dilución previa de 1:100 (e.g. 0,100 mL de disolución llevados exactamente a 10 mL).

(b) Requiere dilución previa de 1:100 (e.g. 0,100 mL de disolución llevados exactamente a 10 mL).

Note que la solución de calibración a nivel 3 se prepara en mayor volumen para ser utilizada cada vez que se requiera controlar la calibración del cromatógrafo. Las concentraciones resultantes para los analitos, estándares de recuperación y estándares internos, en cada solución de calibración, son las que se indican a continuación:

Soluciones de Calibración	Concentración de cada analito (ng/mL)	Concentración de cada estándar de recuperación (ng/mL)	Concentración de cada estándar internos (ng/mL)
Nivel 1	200	2000	2000
Nivel 2	1000	2000	2000
Nivel 3	5000	2000	2000
Nivel 4	20000	2000	2000
Nivel 5	50000	2000	2000

Disoluciones de Fortificación (Siembra)

Estas disoluciones de fortificación o siembra se deben preparar a partir de las soluciones recibidas. Se recomienda la preparación, concentración de fortificación o siembra y uso de las distintas disoluciones como sigue:

Estándares de recuperación:

$$[\text{Estándar de recuperación}]_{(\text{ng/mL})} = 1000 \mu\text{g/mL} * \left(\frac{1000 \text{ ng/mL}}{1 \mu\text{g/mL}} \right) * \left(\frac{0,500 \text{ mL}}{25 \text{ mL}} \right) = 20000 \text{ ng/mL}$$

y solución de uso:

$$[\text{Estándar de recuperación}]_{(\text{ng/mL})} = 20000 \text{ ng/mL} * \left(\frac{0,100 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} \right) = 2000 \text{ ng/mL}$$

Estándares internos:

$$[\text{Estándar Interno}]_{(\text{ng/mL})} = 1000 \mu\text{g/mL} * \left(\frac{1000 \text{ ng/mL}}{1 \mu\text{g/mL}} \right) * \left(\frac{0,500 \text{ mL}}{25 \text{ mL}} \right) = 20000 \text{ ng/mL}$$

y solución de uso:

$$[\text{Estándar Interno}]_{(\text{ng/mL})} = 20000 \text{ ng/mL} * \left(\frac{0,100 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} \right) = 2000 \text{ ng/mL}$$

Analitos:

$$[\text{Analito}]_{(\text{ng/mL})} = 2000 \mu\text{g/mL} * \left(\frac{1000 \text{ ng/mL}}{1 \mu\text{g/mL}} \right) * \left(\frac{0,250 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \right) = 50000 \text{ ng/mL}$$

y solución de uso:

$$[\text{Analito}]_{(\text{ng/mL})} = 50000 \text{ ng/mL} * \left(\frac{0,100 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} \right) = 5000 \text{ ng/mL}$$

III.9.9. Ejemplos de curva de calibración y cálculos

Esta sección ejemplifica la obtención de las curvas de calibración y uso de las ecuaciones de cálculos. A modo de ejemplo comparativo se muestran los procedimientos a seguir con el agregado de estándares de recuperación y cuatro niveles de calibración (en este caso, el nivel medio se utiliza como disolución independiente para controlar la calibración). Independientemente del método utilizado para realizar la calibración del cromatógrafo de gases, la información resultará de la forma mostrada en (Fig. 6):

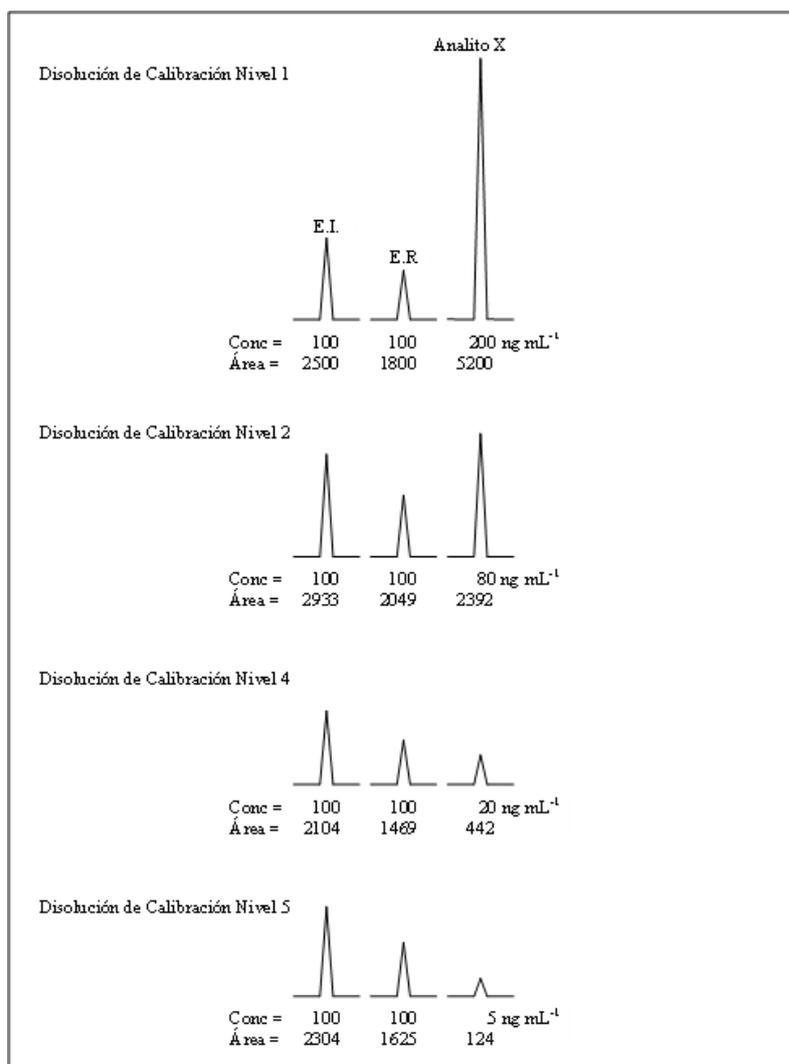


FIG. 6. Ejemplos de resultados de calibración del cromatógrafo de gases

III.9.9.1. Curva de calibración utilizando el estándar de recuperación

	Área Relativa = $\left(\frac{\text{Área Analito X}}{\text{Área Est. Rec.}}\right)$	Conc. Relativa = $\left(\frac{\text{Conc. Analito X}}{\text{Conc. Est. Rec.}}\right)$
Disolución de Calibración-Nivel 1	(5200/1800) = 2,8889	(200 ng mL ⁻¹ /100 ng mL ⁻¹) = 2,000
Disolución de Calibración-Nivel 2	(2392/2049) = 1,1674	(80 ng mL ⁻¹ /100 ng mL ⁻¹) = 0,800
Disolución de Calibración-Nivel 4	(442/1469) = 0,3009	(20 ng mL ⁻¹ /100 ng mL ⁻¹) = 0,200
Disolución de Calibración-Nivel 5	(124/1625) = 0,0763	(5 ng mL ⁻¹ /100 ng mL ⁻¹) = 0,050

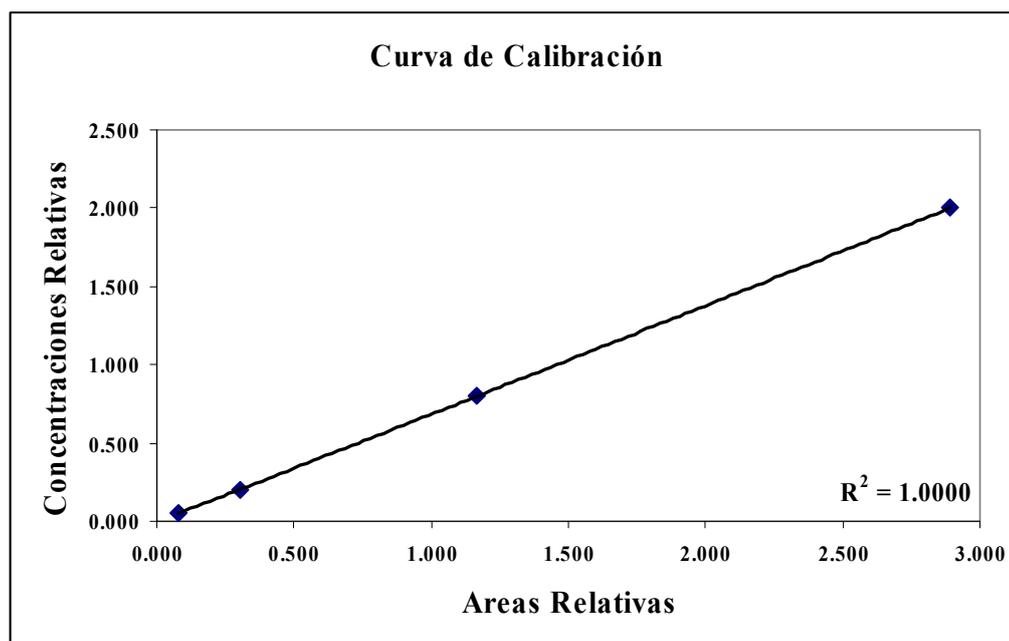


FIG. 8. Ejemplo de curva de calibración

La curva de calibración (ejemplo en Fig. 8) puede corresponder a ecuaciones de distintas formas. Por ejemplo:

$$Y = A X^B$$

donde

Y es la Concentración Relativa;

X es el Área Relativa;

A & B es la pendiente y coeficiente de la ecuación, respectivamente.

En este ejemplo, los valores de ajuste de curva A y B son 0,6811 y 1,016, respectivamente, con un R² de 1,0000.

Ecuaciones de Cálculo Utilizando el Estándar de Recuperación

$$Y = A X^B \quad (1)$$

$$\text{Conc. Relativa} = A * (\text{Área Relativa})^B \quad (2)$$

$$\frac{[\text{Analito}]_{(\text{ng mL}^{-1})}}{[\text{Est. Subrogado}]_{(\text{ng mL}^{-1})}} = A * \left(\frac{\text{Área Analito}}{\text{Área Est. Subrogado}} \right)^B \quad (3)$$

$$\frac{\left(\frac{\text{Masa Analito (ng)}}{\text{Volumen (mL)}} \right)}{\left(\frac{\text{Masa Est. Subrogado (ng)}}{\text{Volumen (mL)}} \right)} = A * \left(\frac{\text{Área Analito}}{\text{Área Est. Subrogado}} \right)^B \quad (4)$$

$$\frac{\text{Masa Analito (ng)}}{\text{Volumen (mL)}} = A * \left(\frac{\text{Área Analito}}{\text{Área Est. Subrogado}} \right)^B * \left(\frac{\text{Masa Est. Subrogado (ng)}}{\text{Volumen (mL)}} \right) \quad (5)$$

$$\frac{\left(\frac{\text{Masa Analito (ng)}}{\text{Volumen (mL)}} \right)}{\left(\frac{\text{Peso Muestra (g)}}{\text{Volumen (mL)}} \right)} = A * \left(\frac{\text{Área Analito}}{\text{Área Est. Subrogado}} \right)^B * \frac{\left(\frac{\text{Masa Est. Subrogado (ng)}}{\text{Volumen (mL)}} \right)}{\left(\frac{\text{Peso Muestra (g)}}{\text{Volumen (mL)}} \right)} \quad (6)$$

$$[\text{Analito}]_{(\text{ng g}^{-1})} = A * \left(\frac{\text{Área Analito}}{\text{Área Est. Subrogado}} \right)^B * \left(\frac{\text{Masa Est. Subrogado (ng)}}{\text{Peso Muestra (g)}} \right) \quad (7)$$

$$[\text{Analito}]_{(\text{ng g}^{-1} \text{ peso seco})} = A * \left(\frac{\text{Área Analito}}{\text{Área Est. Subrogado}} \right)^B * \left(\frac{\text{Masa Est. Subrogado (ng)}}{\text{Peso Muestra (g)}} \right) * \left(\frac{100}{\text{Peso Seco (\%)}} \right) \quad (8)$$

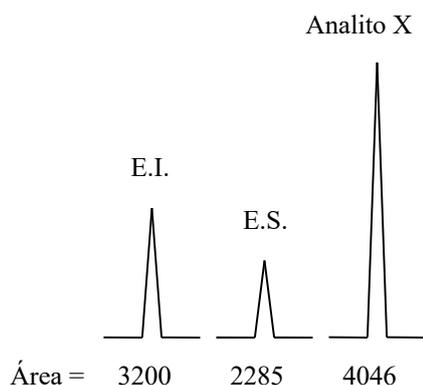
III.9.9.2. Ejemplos de cálculos

Considere los siguientes datos de laboratorio:

Ejemplo A:

Muestra de	=	sedimento;
Peso de muestra	=	10,82 gramos de peso húmedo;
Porcentaje de peso seco	=	12,9%;
Estándar de recuperación agregado	=	0,100 mL;
[Estándar de recuperación]	=	1000 ng mL ⁻¹ ;
Volumen final del extracto	=	~ 1 mL;
Estándar interno agregado	=	0,100 mL;
[Estándar interno]	=	1000 ng mL ⁻¹

Tomando la información de la *Curva de Calibración Utilizando el Estándar de Recuperación* y el ejemplo A considere el siguiente cromatograma:



La ecuación final para el cálculo de concentraciones utilizando el estándar de recuperación, discutida anteriormente (ecuación 8), es:

$$[\text{Analito}]_{(\text{ng g}^{-1} \text{ peso seco})} = A * \left(\frac{\text{Área Analito}}{\text{Área Est. Subrogado}} \right)^B * \left(\frac{\text{Masa Est. Subrogado}_{(\text{ng})}}{\text{Peso Muestra}_{(\text{g})}} \right) * \left(\frac{100}{\text{Peso Seco}_{(\%)}} \right)$$

Reemplazando en la ecuación:

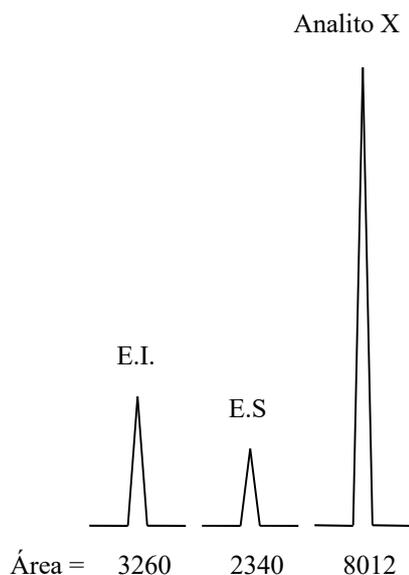
$$[\text{Analito}]_{(\text{ng g}^{-1} \text{ peso seco})} = 0,6811 * \left(\frac{4046}{2285} \right)^{1,016} * \left(\frac{100_{(\text{ng})}}{10,82_{(\text{g})}} \right) * \left(\frac{100}{12,9} \right) = 87,20 \text{ ng/g peso seco}$$

En aquellas muestras donde se presupone una baja concentración de los analitos de interés, se puede concentrar el volumen final del extracto anterior a un volumen menor (por ejemplo, a aproximadamente 0,5 mL) para aumentar la señal del cromatógrafo de los mismos. En este caso se debe ajustar adecuadamente (e.g. disminuir a la mitad) el agregado de estándares de recuperación e internos para obtener una respuesta similar a la observada para estos estándares en los cromatogramas de calibración y facilitar así una rápida comparación visual de la recuperación, calidad de la inyección, etc.:

Ejemplo B:

Muestra de	=	sedimento;
Peso de muestra	=	10,82 gramos de peso húmedo;
Porcentaje de peso seco	=	12,9%;
Estándar de recuperación agregado	=	0,050 mL;
[Estándar de recuperación]	=	1000 ng mL ⁻¹ ;
Volumen final del extracto	=	~0,500 mL;
Estándar interno agregado	=	0,050 mL;
[Estándar interno]	=	1000 ng mL ⁻¹

El siguiente cromatograma corresponde al ejemplo B:



Reemplazando en ecuación (8):

$$[\text{Analito}]_{(\text{ng g}^{-1} \text{ peso seco})} = 0,6811 * \left(\frac{8012}{2340}\right)^{1,016} * \left(\frac{50 (\text{ng})}{10,82 (\text{g})}\right) * \left(\frac{100}{12,9}\right) = 85,20 \text{ ng g}^{-1} \text{ peso seco}$$

El procedimiento opuesto debe seguirse si se sospecha de una muestra de concentraciones altas. Los cálculos se realizan de manera similar siempre teniendo en cuenta la cantidad de estándar de recuperación agregado al extracto o a la muestra antes de la purificación o extracción y purificación, respectivamente.

III.9.10. Cálculo de recuperación del estándar de recuperación usando el estándar interno

La utilización de estándares internos permite calcular el recobre de los estándares de recuperación y poder evaluar la efectividad del método de laboratorio. Si el agregado de estándares de recuperación e internos se hace correctamente, las concentraciones de éstos en el extracto final y en las disoluciones de calibración serán iguales (i.e. 100 ng mL⁻¹ cada uno) y la relación entre ellos se mantendrá independientemente del volumen final del extracto. La razón entre el estándar de recuperación y el estándar interno en las disoluciones de calibración representa una recuperación ideal del 100%. Un cálculo simple utilizando como referencia cualquiera de esas disoluciones de calibración, o mejor aún, utilizando el promedio de todas las disoluciones de calibración nos permite calcular la recuperación del estándar de recuperación en la muestra como se ilustra a continuación:

	Área Estándar Interno (E.I.)	Área Estándar de Recuperación (E.R.)	Razón (Área E.R./Área E.I)
Disolución de Calibración-Nivel 1	2500	1800	0,7200
Disolución de Calibración-Nivel 2	2933	2049	0,6986
Disolución de Calibración-Nivel 4	2104	1469	0,6981
Disolución de Calibración-Nivel 5	2304	1625	0,7053
Promedio	—	—	0,7055
Ejemplo A (vol. = 1,0 mL)	3200	2285	0,7141
Ejemplo B (vol. = 0,5 mL)	3260	2340	0,7178

$$\text{Recuperación de Estándar Subrogado (\%)} = \frac{0,7141}{0,7055} * 100 = 101.21\% \quad (\text{Ejemplo A})$$

$$\text{Recuperación de Estándar Subrogado (\%)} = \frac{0,7178}{0,7055} * 100 = 101,74\% \quad (\text{Ejemplo B})$$

III.9.11. Reporte final de concentraciones

En general, el reporte final debe expresar estas concentraciones, con tres decimales después de la coma, en ng g⁻¹ peso seco. Los calificadores que comúnmente se utilizan para caracterizar los datos se encuentran en el Cuadro III.3.

CUADRO III.3. CALIFICADORES DE USO COMÚN PARA CARACTERIZAR LOS DATOS

Calificador		Significado
ND	=	No detectado
J	=	Por debajo del límite de detección del método
NA	=	No aplicable
Q	=	Resultado fuera de control
I	=	Interferencia
B	=	Contaminación presente en el blanco
D	=	Dilución
EC	=	Excede el punto máximo de la calibración

El laboratorio debe poseer un sistema de acciones correctivas que se active ante toda situación que afecta la calidad de los datos y no se cumplan los objetivos de precisión y exactitud detallados en Cuadro III.4.

CUADRO III.4. OBJETIVOS DE PRECISIÓN Y EXACTITUD DE LOS ANÁLISIS

Parámetros de calidad de los datos	Frecuencia	Objetivos a cumplir ^(a)
Estándares de recuperación	En cada muestra	Recuperación entre el 40–120% de la cantidad agregada
Exactitud		
Blanco enriquecido	5 % de las muestras en la batería analítica	Recuperación entre el 40–120% de la cantidad agregada
Muestra enriquecida	(1:20) ^(a, b)	
Precisión		
Muestras Duplicadas	5 % de las muestras en la batería analítica	Diferencia porcentual relativa entre concentraciones de un mismo analito menor al 25%
Blanco enriquecido en duplicado	(1:20) ^(a, b)	
Muestra enriquecida en duplicado		

(a) por lo menos uno por batería analítica

(b) puede ser obviado si no se tiene suficiente muestra

REFERENCIAS

[1] UNITED NATIONS ENVIRONMENTAL PROGRAM, Guidelines for the collection, preparation and analysis of organic contaminants in environmental samples (water, soil/sediments, and biota). Coastal Monitoring Manual for the GEF-REPCar Project. UNEP-Caribbean Environment Programme, CEP Technical Report: 57, UNEP, Kingston (2008).

III.10. FACTORES DE NORMALIZACIÓN PARA METALES Y METALOIDES

Las concentraciones de los metales y metaloides normalmente covarían con el tamaño de grano y el contenido de materia orgánica en los sedimentos. Esto es debido, por un lado, a que estos contaminantes muestran una mayor afinidad por las partículas finas que por la fracción gruesa; y por el otro, a que la materia orgánica, además de ser altamente reactiva a estos compuestos, tiende a formar una película que recubre a las partículas sedimentarias, y al concentrarse en las partículas mas finas, se convierte en un sustrato con una enorme área superficial en comparación con las arenas.

La normalización, entendida como el proceso de ajustar las concentraciones de los metales y metaloides a una característica común en los sedimentos, tiene como propósito compensar la variabilidad natural de estas concentraciones, tomando en cuenta las diferencias en la composición de las muestras de sedimentos (e.g. distribución de tamaño de grano y mineralogía), para facilitar la identificación y cuantificación de las contribuciones antrópicas. En el Cuadro III.5 se presenta una lista de los factores de normalización mas comúnmente utilizados.

Con el propósito de compensar las variaciones de las concentraciones de los metales, debidas a cambios en el tamaño de grano o en la fracción mineral de aluminosilicatos (abundantes en los minerales arcillosos), se recomienda normalizar las concentraciones de los metales respecto a las de elementos de referencia, tales como Al, Li o Ti. Una de las condiciones para decidir cuál elemento de referencia es el mas apropiado para normalizar las concentraciones de metales, es que exista una correlación significativa entre el contenido de este elemento de referencia y la abundancia de alguna fracción de tamaño de grano específica (i.e. arcillas, limos, arenas).

Existen varios métodos de normalización por elementos de referencia. El primero de ellos consiste en realizar un análisis de regresión entre Al, Fe o Li y la concentración de metales, utilizando bandas de confianza al 95% de probabilidad [1], donde los valores por fuera de las bandas de confianza representan enriquecimiento anómalo y por tanto, probable contaminación (ver ejemplos en [2]). Otro de los métodos conlleva la división del contenido de los metales entre la concentración de Al o Li, con lo cual es posible comparar los niveles de enriquecimiento respecto a la profundidad en los cores sedimentarios (es decir, respecto al tiempo); sin embargo, se obtiene un valor adimensional que no es fácil de interpretar.

Uno de los usos más comunes en la literatura de los elementos de referencia para normalizar las concentraciones de elementos metálicos, es en el cálculo del factor de enriquecimiento (FE; [3]) que se calcula de acuerdo con la ecuación E.3:

$$FE = \frac{\left(\frac{M_i^+}{Al_i}\right)}{\left(\frac{M_{bckg}^+}{Al_{bckg}}\right)} \quad E.3$$

donde:

$[M_i^+]$ y $[Al_i]$ representan los valores de la concentración de metales y de Al (u otro elemento de referencia alternativo) respectivamente, en la profundidad i-ésima del core; y $[M_{bckg}^+]$ y $[Al_{bckg}]$ representan las concentraciones naturales o pre-anthropogénicas de los metales y de Al (u otro elemento de referencia alternativo) determinadas para el sitio de muestreo.

Uno de estos elementos de referencia alternativos para la normalización es Fe, aunque su uso no siempre es adecuado en cores, debido a su potencial de movilidad diagénica, debida a cambios en condiciones redox en los sedimentos (ver [4] para mayor información). El análisis de correlación entre las concentraciones de Fe (o Mn, otro elemento redox-sensible) y los metales contaminantes puede ser útil para determinar si el enriquecimiento por metales en las capas superiores de un core sedimentario es resultado de contaminación antrópica o más bien, es resultado de la formación de oxi-hidróxidos de Fe y Mn, debido a removilización diagénica.

La materia orgánica es un importante constituyente de los sedimentos debido a su alta reactividad con componentes orgánicos e inorgánicos, incluyendo ^{210}Pb y los contaminantes metálicos; por tanto, la variación en el contenido de materia orgánica en los estratos de los cores sedimentarios, puede crear cambios aparentes en los perfiles de ^{210}Pb y los metales pesados, aún cuando el suministro de estos no haya cambiado. La determinación de materia orgánica en los sedimentos (e.g. estimada a través del análisis de pérdidas por ignición, Anexo III.2; o de carbono orgánico total, Anexo III.7) puede ser usada para normalizar las concentraciones de los contaminantes metálicos mediante análisis de regresión y uso de las bandas de confianza (tal como se describió anteriormente para los elementos de referencia); así como para corregir las concentraciones de ^{210}Pb y los contaminantes de interés, al calcular las concentraciones libres de materia orgánica, tal como lo describe la ecuación E.4:

$$[M^+, ^{210}\text{Pb}]_{\text{normalizado}} = [M^+, ^{210}\text{Pb}] \times [(100-\text{MO})/100] \quad \text{E.4}$$

donde $[M^+, ^{210}\text{Pb}]_{\text{normalizado}}$ representa los valores normalizados de la concentración del metal pesado o de la actividad de ^{210}Pb , $[M^+, ^{210}\text{Pb}]$ son los valores medidos de la concentración del metal pesado o de la actividad de ^{210}Pb , y MO son los valores (en porcentaje) de la materia orgánica.

Por último, aunque algunos metales pueden encontrarse asociados a minerales carbonatados, lo cierto es que los minerales de arcilla, la materia orgánica, los oxi-hidróxidos de Mn y Fe son consideradas las fracciones sedimentarias con mayor capacidad de concentrar metales [5], mientras que el cuarzo, los feldespatos y los carbonatos se incluyen entre los constituyentes minerales que son en gran parte químicamente inertes [6]. Así, el contenido de carbonatos es generalmente considerado como un diluyente de las concentraciones de metales y metaloides en los sedimentos, por lo cual es importante evaluar si la aparente disminución en las tendencias de estos contaminantes se debe a una disminución de su aporte al sedimento, o si se debe en realidad a un incremento en las concentraciones de carbonatos. Una estrategia para realizar esta evaluación es verificar si existe una correlación significativa ($p < 0.05$) entre las concentraciones de carbonatos (e.g. estimada a través del análisis de pérdidas por ignición (PPI_{950} , Anexo III.2) o de carbono inorgánico total, Anexo III.7) y las de los elementos contaminantes; y normalizar las concentraciones de los elementos mediante el cálculo del factor de dilución [5], que se describen en las ecuaciones E.5 y E.6:

$$\text{Factor de dilución} = 100 / (100 - \text{carbonatos} (\%)) \quad \text{E.5}$$

$$\text{Concentración normalizada} = (\text{factor de dilución}) \times (\text{concentración de metal, mg/kg}) \quad \text{E.6}$$

CUADRO III.5. FACTORES DE NORMALIZACIÓN PARA METALES Y METAOLIDES (basado en [7]).

Factor	Indicador	Rol
<i>Textura</i>		
Tamaño de grano <2000 µm	Variación de tamaño de grano de minerales y compuestos acarreadores de metales	Determina patrones de arreglo y depósito de los metales
Arenas 2000–63 µm	Minerales/compuestos de tamaño grueso, pobres en metales	Diluyente de las concentraciones de metales
Lodos <63 µm	Minerales/compuestos de tamaño de limos y arcillas, acarreadores de metales	Principales concentradores de elementos metálicos
Arcillas <2 µm	Minerales arcillosos ricos en metales	Acumulador de metales, excepto sedimentos derivados de erosión glacial de rocas ígneas.
<i>Químico</i>		
Si	Cantidad y distribución de cuarzo pobre en metales	Diluyente de concentraciones de metales, principalmente presente en grano grueso
Al	Alumino-silicatos, usado para compensar variación de tamaño de grano de alumino-silicatos finos (limos y arcillas) ricos en metales	Trazador químico de alumino-silicatos, particularmente en minerales arcillosos
Fe	Lodos y arcillas ricos en metales ricos en minerales de Fe (oxi-hidróxidos)	Trazador para minerales arcillosos ricos en Fe
Sc	Sc estructural en arcillas	Trazador de minerales arcillosos concentradores de metales
Cs	Cs estructural en arcillas y feldespastos	Trazador de minerales arcillosos concentradores de metales
Li	Li estructural en minerales de arcillas y micas	Trazador de minerales arcillosos, particularmente sedimentos que contienen Al-silicatos en cualquier tamaño de grano
Ti	Ti presente en minerales primarios estables (rutilo, ilmenita, titanita)	Indicativo de contribución terrígena, trazador de minerales pesados; presente principalmente en arenas y limos.
Carbono orgánico	Materia orgánica asociada a grano fino	Frecuentemente acumulador de metales como Hg y Cd, y contaminantes orgánicos

REFERENCIAS

- [1] LORING D.H., RANTALA R.T.T., Manual for-thegeochemical analyses of marine sediments and suspended particulate matter. *Earth-Science Reviews* **32** (1992) 235-283.
- [2] ZHANG W., FENG H., CHANG J., QU J., XIE H., YU L., Heavy metal contamination in surface sediments of Yangtze River intertidal zone: An assessment from different indexes. *Environmental Pollution* **157** (2009) 1533-1543.
- [3] BUAT-MENARD, P., CHESSELET, R., Variable influence of the atmospheric flux on the trace metals chemistry of oceanic suspended matter. *Earth and Planetary Science Letters* **42** (1979) 399-411.
- [4] RUIZ-FERNÁNDEZ A. C., FRIGNANI M., HILLAIRE-MARCEL C., GHALEB B., ARVIZU M. D., RAYGOZA-VIERA J. R., PÁEZ-OSUNA F., Trace Metals (Cd, Cu, Hg, and Pb) Accumulation Recorded in the Intertidal Mudflat Sediments of Three Coastal Lagoons in the Gulf of California, Mexico. *Estuaries and Coasts* **32** (2009) 551-564.
- [5] HOROWITZ A. J., A Primer on Trace Metal-Sediment Chemistry. U.S. Geological Survey Water-Supply Paper 2277. US Geological Survey, Alexandria, U.S.A. (1985), 66 pp.
- [6] SALOMONS W., FÖRSTNER U., Metals in the hydrocycle. Springer Verlag, Berlin, (1984) 349 pp.
- [7] LORING, D. H., Normalization of heavy-metal data from estuarine and coastal sediments. *ICES Journal of Marine Science* **48** (1991) 101-115.